



Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Instituto de Química – Araraquara



Jecika Maciel Velasques

**COMPOSTOS DE PALÁDIO(II) CONTENDO TETRALONAOXIMA
ORTOMETALADA, TIOSSEMICARBAZONA E FOSFINAS
TERCIÁRIAS: SÍNTESE, ESTUDO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO
DA AÇÃO ANTITUMORAL**

Araraquara
2022

Jecika Maciel Velasques

**COMPOSTOS DE PALÁDIO(II) CONTENDO TETRALONAOXIMA
ORTOMETALADA, LIGANTES FOSFÍNICOS E
TIOSEMICARBAZONA: SÍNTESE, ESTUDO ESTRUTURAL E
AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTITUMORAL**

Tese apresentada ao Instituto de Química da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto
Coorientador: Prof. Dr. *rer. nat.* Adriano Bof de Oliveira

**Araraquara
2022**

V434c Velasques, Jecika Maciel
Compostos de Paládio(II) contendo tetralonaoxima ortometalada,
tiossemicarbazona e fosfinas terciárias: síntese, estudo estrutural e avaliação
da ação antitumoral / Jecika Maciel Velasques. – Araraquara, 2022
290 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de
Química, Araraquara
Orientador: Adelino Vieira de Godoy Netto
Coorientador: Adriano Bof de Oliveira

1. Paládio. 2. Compostos organometálicos. 3. Compostos bioativos. 4.
Tiossemicarbazonas. 5. Oximas. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Química,
Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL
PAULISTA

Câmpus de
Araraquara



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE:

"Compostos de Paládio(II) Contendo Tetralonaoxima
Ortometalada, Tiossemicarbazona e Fosfinas
Terciárias: Síntese, Estudo Estrutural e Avaliação da
Ação Antitumoral"

AUTORA: JECIKA MACIEL VELASQUES

ORIENTADOR: ADELINO VIEIRA DE GODOY NETTO

COORIENTADOR: ADRIANO BOF DE OLIVEIRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. ADELINO VIEIRA DE GODOY NETTO (Participação Virtual)
Departamento de Química Analítica Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Profª Drª VANESSA CARRATU GERVINI (Participação Virtual)
Departamento de Química e Alimentos / Universidade Federal do Rio Grande - FURG - Rio Grande

Prof. Dr. FILLIPE VIEIRA ROCHA (Participação Virtual)
Departamento de Química / Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia - UFSCar - São Carlos



UNIVERSIDADE ESTADUAL
PAULISTA

Campus de
Araraquara



Prof. Dr ANDERSON MARTINEZ SANTANA (Participação Virtual)
Departamento de Química / Universidade Federal do Mato Grosso - UFMT - Cuiabá

Prof. Dr. EDUARDO TONON DE ALMEIDA (Participação Virtual)
Departamento de Química / Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL - Alfenas

Araraquara, 24 de fevereiro de 2022

DADOS CURRICULARES

DADOS PESSOAIS

Nome: Jecika Maciel Velasques

Data de Nascimento: 26/07/1993

Nacionalidade: Brasileira

Naturalidade: Santana do Livramento/RS

Citações bibliográficas: VELASQUES, J. M.; VELASQUES, JECIKA MACIEL; MACIEL VELASQUES, JECIKA.

FORMAÇÃO ACADÊMICA

2017-atual Doutorado em química
Universidade Estadual Paulista “Júlio de mesquita Filho”, IQ-UNESP, Campus de Araraquara
Projeto: Compostos de Pd(II) contendo tetralonaoxima ortometalada, ligantes fosfínicos e tiossemicarbazona: síntese, estudo estrutural e avaliação da ação antitumoral.

Orientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto

Co-orientador: Prof. Dr. *rer nat.* Adriano Bof de Oliveira

2015-2017 Mestrado em Química
Universidade Federal do Rio Grande, EQA-FURG, Campus Carreiros.
Projeto: Estudo de estruturas cristalinas e supramolecularidade de compostos bases de schiff derivados de isatina.

Orientadora: Prof. Dr^a. Vanessa Carratu Gervini

Co-orientador: Prof. Dr. *rer nat.* Adriano Bof de Oliveira

2011-2015 Bacharelado em Química
Universidade Federal do Rio Grande, EQA-FURG, Campus Carreiros.
Trabalho de conclusão: Síntese e caracterização espectroscópica de ligantes derivados de isatinas halogenadas-tiossemicarbazonas e seus complexos de Zn(II), Cd(II) e Hg(II).

Orientadora: Prof. Dr^a. Vanessa Carratu Gervini

Co-orientadora: MSc. Viviane Bittencourt

ATUAÇÃO PROFISSIONAL***Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP***

2017- atual	Doutoranda: bolsista de doutorado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES;
2021-atual	Docente auxiliar: Bolsista didático do Departamento de Analítica, Físico-química e Inorgânica.
2020-2021	Docente auxiliar: Programa de Aperfeiçoamento e Apoio à Docência no Ensino Superior – PAADES (A);
2019-2020	Docente auxiliar: Programa de Aperfeiçoamento e Apoio à Docência no Ensino Superior – PAADES (A);
2020-2020	Avaliador de painéis: CIC – Congresso de Iniciação Científica IQ-Ar;
2019-2019	Avaliador de painéis: CIC – Congresso de Iniciação Científica IQ-Ar;
2018-2018	Estágio docência: Departamento de Química Geral e Inorgânica;

Associação Cursinho de Educação Popular – ACEP

2020- atual	Professora Voluntária: Cursinho pré-vestibular Maximus.
2022- atual	Coordenadora Científica: Cursinho pré-vestibular Maximus.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Clima Temperado

2014-2014	Estagiária: Central Analítica
------------------	--------------------------------------

Universidade Federal do Rio Grande – FURG

2011-2012	Monitora: Disciplina de Química Geral
2011-2014	Bolsista de Iniciação Científica: Laboratório de Síntese e Caracterização Inorgânica- LCSi.
2015-2017	Mestranda: bolsista de mestrado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

Prêmios e Títulos

2018 **Best Pôster:** Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry / VI Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry / Brazilian Meeting on Rare Earths, SBQ – Divisão de Química Inorgânica.

Orientações:

2018-2019 **Jéssica Souza**
Síntese, estudo estrutural e avaliação da atividade biológica de compostos ciclopaladados contendo oximas ortometaladas e ligantes piridínicos.

ATIVIDADES ACADÊMICAS RELEVANTES

Artigos científicos publicados em periódicos

1. **VELASQUES, JECIKA MACIEL**; SOUZA, RONAN; SILVA, DÉBORA; FARIAS, RENAN; ZANETTI, RENAN; MOREIRA, MARIETE; ELLENA, JAVIER; PEREIRA, JOSÉ; MAURO, ANTÔNIO; OLIVEIRA, ADRIANO; NETTO, ADELINO. Orthopalladated tetralone oxime compounds bearing tertiary phosphines: Synthesis, structure, biological and *in silico* studies. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 958, 2022.
2. **VELASQUES, JECIKA MACIEL**; GERVINI, VANESSA CARRATU; BORTOLUZZI, ADAILTON JOÃO; FARIAS, RENAN LIRA DE; OLIVEIRA, ADRIANO BOF DE. Crystal structure of (3 *E*)-5-nitro-3-(2-phenylhydrazinylidene)-1*H*-indol-2(3*H*)-one. **Acta Crystallographica Section E, Crystallographic Communications**, v. 73, p. 168-172, 2017.
3. **VELASQUES, JECIKA MACIEL**; GERVINI, VANESSA CARRATU; KICKOFEL, LISLIANE; FARIAS, RENAN LIRA DE; OLIVEIRA, ADRIANO BOF DE. Hirshfeld analysis and molecular docking with the RDR enzyme of 2-(5-chloro-2-oxoindolin-3-ylidene)-*N*-methylhydrazinecarbothioamide. **Acta Crystallographica Section E, Crystallographic Communications**, v. 73, p. 702-707, 2017.
4. BITTENCOURT, VIVIANE CONCEIÇÃO DUARTE DE; VICENTE, JULIANO ROSA DE MENESES; **VELASQUES, JECIKA MACIEL**; ZAMBIAZI, PRISCILA JUSSIANE; GERVINI, VANESSA CARRATU. 2-(5-Chloro-2-oxoindolin-3-ylidene)hydrazinecarbothioamide. **Acta Crystallographica Section E**, v. 70, p. 064-065, 2014.
5. CONCEIÇÃO DUARTE DE BITTENCOURT, VIVIANE; CARRATU GERVINI, VANESSA; ROSA DE MENESES VICENTI, JULIANO; **MACIEL VELASQUES, JECIKA**; JUSSIANE ZAMBIAZI, PRISCILLA. 2-

(5-Iodo-2-oxoindolin-3-ylidene)hydrazinecarbothioamide including an unknown solvate. **Acta Crystallographica Section E**, v. 70, p. 0666-0667, 2014.

Trabalhos Apresentados em Congressos

1. **VELASQUES, J. M**; SOUZA, R. F. F. DE; SILVA, D. E. S; FARIAS, R. L; MOREIRA, M. B; ELLENA, J; OLIVEIRA, A. B. DE; PEREIRA, J. C. M; NETTO, A. V. G. DE. Cyclopalladated compounds bearing tetralone oxime: synthesis, *in silico* and biological studies. In: XIX Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry/ VI Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry/ VII Brazilian Meeting on Rare Earths, 2018, Fortaleza – CE.
2. KICKOFEL, L; ALMEIDA, R. M. F. C; CARVALHO, F; LIMA, Q; CORDEIRO, B; MARTINS, B; **VELASQUES, J. M**; GERVINI, V. C; BRESOLIN, L. Síntese e caracterização espectroscópica do ligante 5-bromoisatina-3-toluisulfonohidrazona e seu complexo de cobalto(II). In: XXIII Encontro de Química da Região Sul, 2016, Santa Maria - RS.
3. ALMEIDA, R. F. C; **VELASQUES, J. M**; MARTINS, B. B; BRESOLIN, L; GERVINI, V. C. Síntese e caracterização espectroscópica do ligante 5-Br-isatina-3-toluisulfono-hidrazona e de seu complexo de cobalto(II). In: 15ª Mostra de Produção Universitária: Congresso de Iniciação Científica, 2016, Rio Grande – RS.
4. MARTINS, B. B; **VELASQUES, J. M**; PIRES, F. C; ALMEIDA, R. F. C; BRESOLIN, L; GERVINI, V. C; Síntese e caracterização do ligante 5-cloro isatina-3-oxima e o complexo de zinco(II). In: 15ª Mostra de Produção Universitária: Encontro de Pós Graduação, 2016, Rio Grande – RS.
5. **VELASQUES, J. M**; KICKOFEL, L; LIMA, Q; ALMEIDA, R. F. C; PIRES, F. C; BITTENCOURT, V. C. D; MARTINS, B. B; GERVINI, V. C. Síntese e caracterização espectroscópica do ligante 5-nitroisatina-3-aminoguanidinha, 5-nitroisatina-3-semicarbazona e de seus complexos de Ti(II). In: 15ª Mostra de Produção Universitária: Encontro de Pós Graduação, 2016, Rio Grande – RS.
6. PIRES, F. C; **VELASQUES, J. M**; MARTINS, B. B; BRESOLIN, L; GERVINI, V. C. Síntese e caracterização espectroscópica na região do infravermelho do ligante 2-(1,3-dioxo-1*H*-inden-2(3*H*)-ilideno)-*N*-fenil-hidrazinacarbotioamida e seu complexo de níquel(II). In: 15ª Mostra de Produção Universitária: Congresso de Iniciação Científica, 2016, Rio Grande – RS.

7. **VELASQUES, J. M**; PACHECO, L; LINA, Q; ALMEIDA, V. Y. G; BRESOLIN, L; GERVINI, V. C. Ligante 5-nitro-isatina-3-semicarbazona e seu complexo de Ga(III): Síntese e caracterização espectroscópica. In: XXII Encontro de Química da Região Sul, 2015, Joenville – SC.
8. SANTOS, L. P. B; **VELASQUES, J. M**; BITTENCOURT, V. C. D; GONÇALVES, B. L; BRESOLIN, L; GERVINI, V. C. Síntese e caracterização espectroscópica do ligante 5-Cl-isatina-3-N(CH₃)tiossemicarbazona e de seu complexo de cobre(II). In: 14^a Mostra de Produção Universitária: Congresso de Iniciação Científica, 2015, Rio Grande – RS.
9. ALMEIDA, R. F. C; BITTENCOURT, V. C. D; **VELASQUES, J. M**; GONÇALVES, B. L; BRESOLIN, L; GERVINI, V. C. 5-cloro-isatina-3-tiossemicarbazona e seu complexo de cobalto(II): síntese e caracterização espectroscópica. In: 14^a Mostra de Produção Universitária: Congresso de Iniciação Científica, 2015, Rio Grande – RS.
10. **VELASQUES, J. M**; SANTOS, L. P. B; BITTENCOURT, V. C. D; GONÇALVES, B. L; BRESOLIN, L; GERVINI, V. C. Síntese e caracterização espectroscópica do ligante 5-I-isatina-3-toluisulfonohidrazona e de seu complexo de níquel(II). In: 14^a Mostra de Produção Universitária: Encontro de Pós Graduação, 2015, Rio Grande – RS.
11. **VELASQUES, J. M**; ALMEIDA, V. Y. G; BITTENCOURT, V. C. D; GONÇALVES, B. L; BRESOLI, L; GERVINI, V. C. Ligante 5-Cl-isatina-3-tiossemicarbazona e seu complexo de Cd(II): síntese e caracterização espectroscópica. In: XXI Encontro de Química da Região Sul, 2014, Maringá - PR
12. ALMEIDA, V. Y. G; BITTENCOURT, V. C. D; **VELASQUES, J. M**; KICKOFEL, L; GONÇALVES, B. L; DIAS, G. M; GERVINI, V. C. Síntese e caracterização espectroscópica do ligante 5-cloro-isatina-3-fenilhidrazona e seu complexo de Sn(II). In: 13^a Mostra de Produção Universitária: Congresso de Iniciação Científica, 2014, Rio Grande – RS.
13. **VELASQUES, J. M**; BITTENCOURT, V. C. D; ALMEIDA, V. Y. G; GONÇALVES, B. L; BRESOLI, L; GERVINI, V. C. 5-cloro-isatina-3-tiossemicarbazona e seu complexo de cobre(II): síntese e caracterização espectroscópica. In: 13^a Mostra de Produção Universitária: Congresso de Iniciação Científica, 2014, Rio Grande – RS.
14. BITTENCOURT, V. C. D; **VELASQUES, J. M**; ALMEIDA, V. Y. G; GONÇALVES, B. L; BRESOLIN, L; GERVINI, V. C. Síntese e caracterização espectroscópica do ligante 5-flúor-isatina-3-

- tiossemicarbazona e seu complexo de Cu(II). In: 13ª Mostra de Produção Universitária: Encontro de Pós Graduação, 2014, Rio Grande – RS.
15. **VELASQUES, J. M**; BITTENCOURT, V. C.D; ALMEIDA, V. Y. G; TRIBUZY, K. C. B; BRESOLIN, L. GERVINI, V. C. Síntese e caracterização espectroscópica do ligante 5-Cl-isatina-3-tiossemicarbazona. In: XX Encontro de Química da Região Sul, 2013, Lajeado – RS.
16. **VELASQUES, J. M**; BITTENCOURT, V. C; ALMEIDA, V. Y. G; TRIBUZY, K. C; BRESOLIN, L; GERVINI, V. C. Aloxan-5-feniltiossemicarbazona e seu complexo de cobalto(II): síntese e caracterização espectroscópica. In: 12ª Mostra de Produção Universitária: Congresso de Iniciação Científica, 2013, Rio Grande – RS.
17. BITTENCOURT, V. C. D; **VELASQUES, J. M**; ALMEIDA, V. Y. G; TRIBUZY, K. C; BRESOLIN, L; GERVINI, V. C. Aloxan-5-feniltiossemicarbazona e seu complexo de níquel(II): síntese e caracterização espectroscópica. In: 12ª Mostra de Produção Universitária: Encontro de Pós Graduação, 2013, Rio Grande – RS.
18. ALMEIDA, V. Y. G; BITTENCOURT, V; **VELASQUES, J. M**; TRIBUZY, K. C; BRESOLIN, L; GERVINI, V. C. Síntese e caracterização espectroscópica do ligante aloxan-5-feniltiossemicarbazona e seu complexo de cobre(II). In: 12ª Mostra de Produção Universitária: Congresso de Iniciação Científica, 2013, Rio Grande – RS.
19. BITTENCOURT, V. C. D; SILVA, B. C; **VELASQUES, J. M**; ACOSTA, C. M. M; BRESOLIN, L; GERVINI, V. C. Síntese e estudo estrutural do composto aloxan-5-tiossemicarbazona. In: 11ª Mostra de Produção Universitária: Congresso de Iniciação Científica, 2012, Rio Grande – RS.
20. MADEIRA, V. C; SILVA, B. C; **VELASQUES, J. M**; BASTOS, M. N. T; BRESOLIN, L; CARRATU, V. S. Síntese e caracterização espectroscópica do ligante aloxan-5-tiossemicarbazona e seu complexo de cobalto(II). In: 10ª Mostra de Produção Universitária: Congresso de Iniciação Científica, 2011, Rio Grande – RS.

Dedicatória

A todos os **Professores e Mestres** que tiveram a
grandeza de compartilhar o conhecimento,
inspirar, apoiar e acreditar, se tornando peças
essenciais na minha construção acadêmica.
Este trabalho é resultado do brilhante trabalho
de vocês.

Agradecimentos

Primeiramente, hoje e sempre à minha FAMÍLIA, minha mãe (**Roseli Maciel**), meu irmão (**Arthur Maciel**) e a nossa cachorrinha (**Vida**). Por entenderem e aceitarem as minhas ausências durante todo o período em que estive fora de casa, por todo apoio, compreensão, carinho e amor incondicional que temos. Todo o esforço, as vitórias e as conquistas serão SEMPRE por vocês! Amo-os para sempre!

Agradeço ao meu namorado **Vitor** por todo carinho, amor, companheirismo e parceria de todos estes anos. Por sempre acreditar que sou capaz e me apoiar incondicionalmente. Amo muito você!

Agradeço ao prof. **Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto** por todo apoio, amizade, compreensão, pelas oportunidades e pela confiança depositada em mim e no meu trabalho tanto de doutorado quanto na atuação como professora. Estendo este agradecimento ao meu coorientador, prof. **Dr. Adriano Bof de Oliveira** pela amizade, apoio e por ter me indicado ao grupo de Química de Coordenação e Organometálicos.

Agradeço ao prof. **Dr. Javier Ellena** (IFSC-USP) pela colaboração nas medidas de Difração de raios X em monocristal. Igualmente agradeço à **Dra. Zumira Carneiro** (FCFRP-USP), pelos ensaios de atividade antiproliferativa.

Agradeço a TODOS os membros do grupo de pesquisa em Química de Coordenação e Organometálicos (**Ana Beatriz, Wladimir, Andressa, Manuela, Bárbara, Renan Zanetti, Renan Lira, Débora, Thales, Jéssica, Nathalia, Ana Polez e Gabriela**), pelas construtivas conversas e discussões científicas que foram fundamentais tanto para a construção deste trabalho, quanto para o meu crescimento. Em especial, agradeço a **Dra. Débora** e ao **Dr. Thales** pela amizade e colaboração na realização dos ensaios de inibição celular e lipofilicidade. Igualmente agradeço ao **Renan Zanetti** (Renanzinho) pela linda amizade que construímos, pela parceria ímpar nas aulas que ministramos para o curso de Engenharia Química e pela colaboração nos ensaios com biomoléculas. Agradeço ao meu amigo **Dr. Renan Lira** (menino docking, papermaker, Dr. Chinelo) por todas as risadas, discussões valiosas e

colaboração com os cálculos de docking molecular. Especialmente, agradeço ao meu amigo **Dr. Ronan Freire** pela amizade, pelo companheirismo e generosidade em compartilhar tanto conhecimento comigo, tua contribuição foi fundamental na construção deste trabalho e para a minha formação. Agradeço também pela amizade e contribuição à **Dra. Mariete Moreira**, sempre tão prestativa. Por fim, mas não menos importante, agradeço a minha amiga **Bárbara** que além de colega de laboratório foi minha colega de casa nos últimos 4 anos.

Agradeço igualmente aos membros do grupo das MOFs (carinhosamente, “Os Mofentos”), **Renata, Guilherme, Carol, Camila, Gil, Cristian e prof. Dra. Regina Frem**, pela amizade, parceria e momentos de descontração. Em especial, agradeço as minhas amigas do peito, **Carol e Camila** pela amizade que construímos e que, tenho certeza, será para a vida toda!

Agradeço também a todos os amigos sensacionais que o IQ-Unesp e Araraquara me deram: **Mônica** (Monicão), **Naira, Luís, Luan, Wagner, Lara e Amanda** (minhas eternas colegas de quarto).

Agradeço aos funcionários e técnicos do Instituto de Química, em especial ao **Rafael** (grande Rafa) pela amizade, pelas risadas e pelas mil e uma análises de IV. Igualmente agradeço ao **Dr. Nivaldo** por todas as análises de RMN realizadas e principalmente pelas valiosas e longas discussões (as tuas contribuições, tanto no período de coleta de dados quanto como membro na banca do exame de qualificação, foram fundamentais). Agradeço também aos técnicos dos laboratórios didáticos, **Rogério e Lígia** por todo apoio e ajuda nas aulas experimentais que ministrei.

Agradeço aos professores do Departamento de Química Inorgânica e do PPG em Química. Em especial, agradeço a prof. **Dra. Marian Davolos** e ao prof. **Dr. Marco Cebim** pelas excelentes aulas de Inorgânica, por terem me oportunizado ministrar aulas no curso de Engenharia Química e aprender tanto com esta experiência. Igualmente agradeço ao professor **Dr. Nilso Barelli**, que desde o primeiro momento se tornou um grande amigo, por todo apoio e colaboração nas aulas experimentais que ministrei para os cursos de Licenciatura e Bacharelado em Química. Agradeço também ao prof. **Dr. Antônio**

Eduardo Mauro pela amizade e pela grandeza em compartilhar experiências não só comigo, mas com todos os membros do grupo.

Quando se chega ao final de um ciclo, que é construído pelo somatório de tantas etapas, como o doutorado o sentimento de gratidão não se estende apenas as pessoas que foram importantes nestes últimos anos, mas em todo o processo. Diante disso, não posso deixar de agradecer a minha querida orientadora de mestrado, prof. **Dra. Vanessa Gervini**, por ter aberto as portas do Laboratório de Catálise e Síntese Inorgânica e por ter acreditado desde sempre no meu potencial. Juntamente, agradeço ao prof. **Dr. Leandro Bresolin** por ter me ensinado tanto. Meu agradecimento se estende a todos os professores do PPGQTA-FURG, cujo excepcional trabalho forneceu a mim todas as bases científicas necessárias para chegar até aqui. Verdadeiramente, muito obrigada!

Agradeço também aos amigos que a FURG me deu: **Bruninha, Juliana, Bianca, Gabi, Léo, Marinalva, Wystan e Lis**. Em especial, agradeço a prof. **Dra. Viviane Bittencourt** (serei para sempre grata a ti) por ter me possibilitado vivenciar a pesquisa em química de coordenação pela primeira vez através do teu trabalho de mestrado e doutorado, os quais tive o prazer de colaborar.

Agradeço a **TODOS os alunos** da 7ª turma de Engenharia Química, dos cursos de Química Licenciatura e Bacharelado dos últimos 3 anos e do Cursinho pré-vestibular Máximus (ACEP), os quais tive a honra e o prazer de ministrar aulas de Química Inorgânica. Saibam que vocês alimentaram em mim a minha identidade como professora e com toda a certeza aprendi mais com vocês do que vocês comigo. Muito obrigada por fazerem parte da minha formação também!

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)- Código de Financiamento 001.

Gratidão a todos!

A vida é uma série de momentos que você vive como se estivesse dançando agora, em torno de cada instante passageiro. E quando você observa o que está ao seu redor, se dá conta “Acho que tive sucesso até aqui”

Ichiro Kishimi e Fumitake Koga

Resumo

Os metalofármacos baseados em platina indubitavelmente configuram a contribuição mais relevante da área de Química Bioinorgânica ao desenvolvimento de fármacos antitumorais aplicados a tratamentos quimioterápicos. Ainda assim, a resistência intrínseca e adquirida por algumas linhagens, a ação inespecífica e por consequência, pouco eficiente destes fármacos desencadeiam uma série de efeitos colaterais severos, representando problemáticas altamente relevantes e que tem impulsionado a busca por moléculas alternativas mais eficazes. Neste contexto, complexos de Pd(II) tem sido apontados como promissores pela similaridade deste íon metálico com o íon Pt(II) e por em geral apresentarem menor toxicidade em comparação aos fármacos baseados em platina. Visando contribuir para a pesquisa destes compostos, o presente trabalho apresenta a síntese, caracterização e avaliação do perfil antitumoral de 2 novas séries de compostos de Pt(II) com fosfinas terciárias aromáticas: monômeros ciclopaladados de fórmula geral $[PdCl(C^2,N\text{-tetrox})PR_3]$ (**JC1-4**) e os complexos de Pd(II) de fórmula geral $[PdCl(L1)PR_3]Cl$ (**J1-4**), onde tetrox = tetralonaoxima, L1 = vanilina-morfolina-etiltiossemicarbazona e PR_3 = trifenilfosfina, tri(*p*-toluil)fosfina, tris(4-fluorofenil)fosfina, tris(4-metóxfenil)fosfina. Os compostos sintetizados foram caracterizados pelas técnicas espectroscópicas de IV e RMN 1H , $^{13}C\{^1H\}$ e $^{31}P\{^1H\}$, análise elementar (CHN) e DRX. Ensaios de inibição do radical DPPH demonstraram que o ligante **L1** apresenta ação antioxidante moderada [IC_{50} 49,7 μM] enquanto os complexos não apresentam atividade. Espectros de RMN 1H e $^{31}P\{^1H\}$ coletados em 0, 24 e 48 h evidenciaram a estabilidade dos complexos obtidos. A avaliação da ação antiproliferativa dos compostos frente as linhagens tumorais de mama (MCF-7, MDA-MB-231), pulmão (A549), próstata (DU-145) e não tumoral de pulmão (MRC-5) demonstrou que a família de ciclopaladados (**JC1-4**) exibiu melhores resultados frente a linhagem MCF-7 [IC_{50} 19,22 a 26,33 μM], apresentando-se mais ativos em comparação a cisplatina [IC_{50} >50 μM]. Já a série de complexos **J1-4**, bem como o ligante **L1** apresentaram ação elevada e seletiva frente a linhagem A549 [IC_{50} 19,22 a 26,33 μM ; SI 3,64 a 54]. Estudos espectroscópicos de interação demonstraram que ambas as séries de compostos interagem fracamente com o DNA, através de ligações de natureza não covalente, preferencialmente nas regiões de sulco. Complementarmente, ensaios de interação com HSA por fluorescência e cálculos de docking molecular demonstraram a habilidade da série de compostos ciclopaladados poderem ser transportados pela proteína na região do sítio DS1. Foram obtidos os valores de log D para o ligante **L1** de $1,61 \pm 0,05$ e para o complexo **J1** $1,52 \pm 0,08$, denotando o perfil lipofílico desta série de compostos. A partir dos resultados observados, os complexos **J1-4** foram considerados como mais promissores em comparação a série de monômeros **JC1-4**, demonstrando o papel farmacofórico do ligante **L1**. Ainda, com a similaridade na atividade inibitória apresentada dentre os compostos de ambas as séries pôde-se propor que as fosfinas terciárias atuam como ligantes auxiliares.

Palavras-chave: Complexos de Pd^{II}, ciclopaladados, atividade biológica.

Abstract

Platinum-based compounds undoubtedly represent the most relevant contribution in the Bioinorganic area to the development of antitumor drugs applied to chemotherapy treatments. Although, the intrinsic and acquired resistance by some tumor cells, the nonspecific and, consequently, inefficient action of these drugs trigger severe side effects, representing great problems and which have driven the research for more effective molecules. In this context, Pd(II) complexes have been pointed out as promising because of the similarity of this metal ion with Pt(II) and displaying lower toxicity compared to platinum drugs. Aiming to contribute to the research of these compounds, this work presents the synthesis, characterization and evaluation of the antitumor profile of 2 new series of Pd(II) compounds bearing tertiary phosphines: mononuclear cyclopalladated compounds of the type $[PdCl(C^2,N\text{-tetrox})(PR_3)]$ (**JC1-4**) and Pd(II) complexes of the type $[PdCl(L1)PR_3]Cl$ (**J1-4**) where tetrox = tetraloneoxime, **L1** = vanillin-morpholine-ethylthiosemicarbazone and PR_3 = triphenylphosphine; tris(4-methylphenyl)phosphine; tris(4-fluorophenyl)phosphine, tris(4-methoxyphenyl)phosphine. The compounds have been characterized by elemental analyses, infrared (FT-IR) and 1H , $^{13}C\{^1H\}$ and $^{31}P\{^1H\}$ -NMR spectroscopies and single crystal X-ray diffraction. DPPH radical inhibition assays showed that the **L1** has moderate antioxidant action [IC_{50} 49.7 μM] while the complexes have no activity. 1H and $^{31}P\{^1H\}$ -NMR spectra collected at 0, 24 and 48 h showed the stability of the obtained complexes. The evaluation of the antiproliferative action of the compounds against breast (MCF-7, MDA-MB-231), lung (A549), prostate (DU-145) and non-tumor lung cell (MRC-5) demonstrated that the family of cyclopalladated (**JC1-4**) showed better results against MCF-7 cells [IC_{50} 19.22 a 26.33 μM], being more active compared to cisplatin [IC_{50} > 50 μM]. The **J1-4** complexes, as well as the **L1**, showed high and selective action against the A549 cells [IC_{50} 19.22 a 26.33 μM ; SI 3.64 a 54]. Interaction spectroscopic studies demonstrated that both series of compounds interact weakly with DNA, through non-covalent bonds, preferentially in the minor groove region. In addition, fluorescence spectroscopy assays and molecular docking calculations demonstrated the ability of the cyclopalladated compounds to be transported by HSA protein in the DS1 site. Log D values for **L1** of 1.61 ± 0.05 and for **J1** of 1.52 ± 0.08 denoting the lipophilic profile of this series of compounds. From the observed results, **J1-4** complexes were considered as more promising compared to the **JC1-4** monomers, demonstrating the pharmacophoric role of the **L1**. With the similarity in the inhibitory activity presented among the compounds of both series, it was possible to propose that tertiary phosphines act as auxiliary ligands.

Keywords: Pd^{II} complexes, cyclopalladated, biological activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Número estimados de novos casos de Câncer (a esquerda) e de mortes (a direita), do ano de 2020 até 2040.....	39
Figura 2: Gráficos representando estimativas para o número de casos e mortes por Câncer no ano de 2020.....	40
Figura 3: Gráficos com estimativas para o número de casos de Câncer em 2020 e, para o número de mortes por Câncer no ano de 2019, entre homens e mulheres no Brasil.....	40
Figura 4: Sequência de fotografias de camundongo com tumores de Sarcoma-180 tratado no oitavo dia com uma injeção intraperitoneal de cisplatina.	44
Figura 5: Representação dos adutos formados entre o DNA e a cisplatina, levando a desestabilização da estrutura da biomolécula (PDB: 1AIO).	47
Figura 6: Fármacos análogos de Pt ^{II} de 2 ^a e 3 ^a geração e estrutura cristalina da interação DNA-oxaliplatina (PDB: 1IHH).	50
Figura 7: Gráficos de barras que relacionam o número de publicações associadas aos termos “metal complex” e “câncer” para as plataformas de busca: Periódicos Capes, Scifinder e Web of Science (Nov.2021).....	51
Figura 8: Estruturas de metalofármacos antineoplásicos em etapa de testes clínicos.	52
Figura 9: Exemplos de compostos ciclopaladados.....	54
Figura 10: Estrutura e dados da ação antitumoral do ciclopaladado [Pd ₂ (S ₇)C ² ,N-dmpa) ₂ (μ-dppe)Cl ₂].	55
Figura 11: Estrutura e dados da ação antitumoral do composto [Pd(C ² ,N-dmba)(Cl)(lut)] da série de ciclopaladados [Pd(C ² ,N-dmba)(X)(lut)].....	57
Figura 12: Estrutura e dados da ação antitumoral da série de ciclopaladados [Pd(C ² ,N-bzox)(X)(L)].	59
Figura 13: Estrutura e dados da ação antitumoral da série de ciclopaladados [Pd(C ² ,N-afox)(Cl)(L)].	60
Figura 14: Estrutura do fármaco Triapine® e representação de sua interação no sítio ativo da enzima RR.	62

Figura 15: Estrutura dos compostos 3-MBTSc e 4-NBTSc e representação de dados de ação antitumoral.	63
Figura 16: Estrutura e dados da ação antitumoral dos compostos tiossemicarbazonas apresentados por Shahriar, S. M. S.; <i>et al.</i>	64
Figura 17: Estrutura geral e dados de ação inibitória para os derivados tiossemicarbazonas apresentados por (a) Mohammed, F. Z.; <i>et al</i> e (b) Mourad, A. A. E.; <i>et al.</i>	65
Figura 18: Estrutura geral e dados da ação antitumoral dos complexos de Pd ^{II} derivados de cinemaldeído tiossemicarbazona e trifenilfosfina.	67
Figura 19: Estrutura geral e dados de atividade antiproliferativa dos complexos de Pd ^{II} derivados de benzalcetona- <i>N</i> (4)-metil-tiossemicarbazona e ligantes fosfínicos.	68
Figura 20: Estruturas gerais e dados da ação antitumoral dos complexos de Pd ^{II} contendo ligante tiossemicarbazona derivado de indol.	70
Figura 21: Estruturas dos complexos mono (a) e dinuclear (b) de Pd ^{II} contendo o ligante 3,5-diacetil-1,2,4-triazol bis(<i>N</i> ⁴ , <i>N</i> ⁴ -dimetiltiossemicarbazona), trifenilfosfina e poses mais estáveis obtidas por docking molecular na região do sulco menor do DNA (PDB: 1BNA).	70
Figura 22: Estrutura geral e dados da ação antitumoral dos complexos de Pd ^{II} contendo ligantes tiossemicarbazonas derivados de cromona e trifenilfosfina.	72
Figura 23: Mecanismo proposto para a formação de compostos ciclopaladados mediado pela ativação da ligação C-H aromática.	95
Figura 24: Representação da isomeria <i>Z</i> (<i>sin</i>) e <i>E</i> (<i>anti</i>) para compostos oximas (R ¹ representa o substituinte de maior prioridade segundo a regra Cahn-Ingold-Prelog) e para o ligante α-tetralonaoxima.	97
Figura 25: Representação do mecanismo proposto para a reação de clivagem de dímeros com pontes de halogênio e ligante ortometalado C,N-doador.	98
Figura 26: Espectros de infravermelho obtidos para o ligante tetrox e para o dímero [Pd(C ² ,N-tetrox)(μ-Cl)] ₂	102
Figura 27: Espectros de infravermelho para os monômeros de fórmula geral [PdCl(C ² ,N-tetrox)PR ₃].	104
Figura 28: Espectro de RMN ¹ H para o ciclopaladado JC1 (14,1 T).	107

Figura 29: Espectro Cosy ^1H - ^1H para o para o ciclopaladado JC1 (14,1 T)..	107
Figura 30: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o ciclopaladado JC1 (14,1 T).....	109
Figura 31: Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DEPT135 para o ciclopaladado JC1 (14,1 T).....	110
Figura 32: Mapa de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o ciclopaladado JC1 (14,1 T).....	111
Figura 33: Mapa de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o ciclopaladado JC1 (14,1 T).....	112
Figura 34: Espectro de RMN ^1H para o ciclopaladado JC2 (14,1 T).	116
Figura 35: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o ciclopaladado JC2 (14,1 T).....	116
Figura 36: Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DEPT135 para o ciclopaladado JC2 (14,1 T).....	117
Figura 37: Espectro de RMN ^1H para o ciclopaladado JC3 (14,1 T).	119
Figura 38: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o ciclopaladado JC3 (14,1 T).....	120
Figura 39: Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DEPT135 para o ciclopaladado JC3 (14,1 T).....	120
Figura 40: Espectro de RMN ^1H para o ciclopaladado JC4 (14,1 T).	123
Figura 41: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o ciclopaladado JC4 (14,1 T).....	124
Figura 42: Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DEPT135 para o ciclopaladado JC4 (14,1 T).....	124
Figura 43: Representação da unidade assimétrica da estrutura cristalina para o composto JC3 , com a ligação intramolecular $\text{H}\cdots\text{Cl}$ sendo representada em linha tracejada. As elipsoides térmicas estão representadas com probabilidade de 40 %.	129
Figura 44: Superfície d_{norm} ao redor da unidade assimétrica do composto JC3 . Os grupos envolvidos em interações intermoleculares mais fortes são representados nas regiões de coloração vermelha.	134
Figura 45: Vista parcial da estrutura cristalina do composto JC3 formando um polímero de ligações de hidrogênio 1D ao longo do eixo cristalográfico c pelas interações do tipo $\text{O}-\text{H}\cdots\text{C}$ (código de simetria: $x, y, -1+z$) e $\text{C}-\text{H}\cdots\text{C}$ (código de simetria: $1-x, 1-y, 2-z$). As ligações de hidrogênios estão representadas por linhas tracejadas. Os hidrogênios foram omitidos para maior clareza.	135

Figura 46: Vista parcial na direção [100] da estrutura do composto JC3 evidenciando as ligações do tipo CH...C (código de simetria: -1+x. y.z), CH...F (código de simetria: -1+x. y. z) e CH...N (código de simetria: 1-x. 1-y. 1-z). As ligações de hidrogênio são representadas por linhas tracejadas e os átomos de hidrogênios foram omitidos para maior clareza.....	136
Figura 47: Espectro de infravermelho obtido para o composto precursor do ligante L1	144
Figura 48: Espectro de infravermelho obtido para o produto final da reação de síntese de L1	146
Figura 49: Espectros de infravermelho obtidos para os complexos de fórmula geral [PdCl(L1)PR ₃]Cl.....	149
Figura 50: Espectro de RMN ¹ H em dms _o -d ₆ para o ligante L1 (14,1 T).....	154
Figura 51: Espectros obtidos com o experimento TOCSY 1D para o ligante L1 , com irradiação nos sinais em δ 4,46 e δ 8,48 (14,1 T).....	155
Figura 52: Espectros obtidos para o experimento HOMODEC 1D para o ligante L1 , nas regiões de δ8,48 e δ1,16 (14,1 T).....	156
Figura 53: Espectro obtido pelo experimento NOESY 1D avaliado sobre o sinal em δ 7,99 (14,1 T).....	157
Figura 54: Espectro obtido pelo experimento NOESY 1D avaliado sobre o sinal em δ 4,46 (14,1 T).....	158
Figura 55: Espectro obtido pelo experimento NOESY 1D avaliado sobre o sinal em δ 7,09 (14,1 T).....	159
Figura 56: Espectros RMN ¹ H do ligante L1 em presença de D ₂ O (14,1 T)..	160
Figura 57: Espectro Cosy ¹ H- ¹ H obtido para o ligante L1 (14,1 T).....	161
Figura 58: Espectro de RMN ¹³ C{ ¹ H} obtido para o ligante L1 (14,1 T).	163
Figura 59: Mapa de contorno HSQC ¹ H- ¹³ C{ ¹ H} obtido para o ligante L1 (14,1 T).....	163
Figura 60: Mapa de contorno HMBC ¹ H- ¹³ C{ ¹ H} obtido para o ligante L1 (14,1 T).....	164
Figura 61: Espectro de RMN ¹ H obtido para o complexo J1 (14,1 T).	167
Figura 62: Espectro de RMN ³¹ P{ ¹ H} obtido para o complexo J1 (14,1 T)....	168
Figura 63: Espectro RMN ¹³ C{ ¹ H} (DEPT135) para o complexo J1 (14,1 T).	171

Figura 64: Mapa de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo J1 (14,1 T).....	172
Figura 65: Mapa de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo J1 , com ampliação da região de hidrogênios e carbonos aromáticos (14,1 T).	174
Figura 66: Espectro de RMN ^1H obtido para o complexo J2 (14,1 T).	176
Figura 67: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo J2 (14,1 T). ...	177
Figura 68: Espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) para o complexo J2 (14,1 T).	177
Figura 69: Espectro de RMN ^1H obtido para o complexo J3 (14,1 T).	182
Figura 70: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo J3 (14,1 T). ...	182
Figura 71: Espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) para o complexo J3 (14,1 T).	183
Figura 72: Espectro de RMN ^1H obtido para o complexo J4 (14,1 T).	187
Figura 73: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo J4 (14,1 T). ...	187
Figura 74: Espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) para o complexo J4 (14,1 T).	188
Figura 75: Espectro de RMN ^1H coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o ciclopaladado JC1 (14,1 T).	193
Figura 76: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o ciclopaladado JC1 (14,1 T).	194
Figura 77: Espectro de RMN ^1H coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o ciclopaladado J1 (14,1 T).....	194
Figura 78: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o ciclopaladado J1 (14,1 T).	195
Figura 79: Gráficos de viabilidade celular obtidas para os compostos J1-4 e L1 frente as linhagens A549 (tumoral pulmão) e MRC-5 (fibroblastos pulmão). .	201
Figura 80: Estrutura química do radical DPPH, espectro de absorção dessa espécie e esquema de reação genérico para a redução do radical.	204
Figura 81: Espectros obtidos para o ensaio de inibição do radical DPPH para os ciclopaladados JC1-4 na concentração máxima de 200 $\mu\text{g/mL}$	205
Figura 82: Gráfico de barras representando as porcentagens de inibição do radical DPPH pelos compostos JC1-4	205
Figura 83: Gráfico de porcentagem de inibição do radical DPPH para o ligante L1 e para o complexo J1	207

Figura 84: Espectros obtidos para o ensaio de inibição do radical DPPH para o ligante L1 e para o complexo J1	207
Figura 85: Espectro CD do DNA na presença de diferentes proporções do ciclopaladado JC3 ([DNA] = 50 μ M).	210
Figura 86: Espectro de absorção UV-vis para o ciclopaladado JC3 (20 mM) na ausência e na presença de ct-DNA (faixa de concentração de 0 a 60 μ M), monitorando a banda em 240 nm.	210
Figura 87: Espectro de emissão do ct-DNA-Hoechst 33258 na presença e na ausência do ciclopaladado JC3 , a temperatura ambiente e pH 7,4 ([ct-DNA] = 60 μ M; [Hoechst] = 6 μ M; [JC3] = 0 a 60 μ M).	214
Figura 88: Espectro CD do DNA na presença de diferentes proporções do ligante L1 ([DNA] = 50 μ M).	215
Figura 89: Espectro de absorção UV-vis para o ligante L1 (20 mM) na ausência e na presença de ct-DNA (faixa de concentração de 0 a 60 μ M).	216
Figura 90: Espectro CD do DNA na presença de diferentes proporções do complexo J1 ([DNA] = 50 μ M).	216
Figura 91: Espectro de absorção UV-vis para o ciclopaladado J1 (20 mM) na ausência e na presença de ct-DNA (faixa de concentração de 0 a 60 μ M).	217
Figura 92: Espectro de emissão do ct-DNA-Hoechst 33258 na presença e na ausência do ligante L1 , a temperatura ambiente e pH 7,4 ([ct-DNA] = 60 μ M; [Hoechst] = 6 μ M; [L1] = 0 a 60 μ M).	218
Figura 93: Espectro de emissão do ct-DNA-Hoechst 33258 na presença e na ausência do complexo J1 , a temperatura ambiente e pH 7,4 ([ct-DNA] = 60 μ M; [Hoechst] = 6 μ M; [J1] = 0 a 60 μ M).	219
Figura 94: Espectros de fluorescência da HSA em ausência e na presença do composto JC3 . O resíduo de Trp-214 foi monitorado no comprimento de emissão de 351 nm (λ_{exc} = 280 nm).	222
Figura 95: Espectros de fluorescência da HSA em ausência e na presença do composto JC3 . O resíduo de Trp-214 foi monitorado no comprimento de 351 nm nas temperaturas de 298 K e 310 K (λ_{exc} = 280 nm).	224

- Figura 96:** Vista parcial do sítio de Sudlaw's I (DS1) para o composto JC3. A molécula é representada com código de cores para os átomos [F (amarelo), Cl (verde), O (vermelho), N (azul), C (cinza escuro) e Pd (azul petróleo)], enquanto as cadeias principais dos resíduos-chave são representadas em verde. Todos os átomos de H de **JC3** foram omitidos para maior clareza. Os contatos são representados por linhas tracejadas em azul. **226**
- Figura 97:** Vista parcial do subdomínio II no sítio de Sudlaw's I (DS1), com a sobreposição entre o redocking (carbonos em roxo) e a warfaria cristalizada (carbonos em verde) [RMSD 0,889 Å]. As cadeias dos resíduos chave são apresentadas por bastões, com códigos de cores [C (salmão); O (vermelho) e N (azul)]. **227**
- Figura 98:** Espectros UV-vis obtidos para a curva de calibração de **L1** em n-octanol e para a triplicata dos experimentos para determinação do log D. **230**
- Figura 99:** Espectros UV-vis obtidos para a curva de calibração de **J1** em n-octanol e para a triplicata dos experimentos para determinação do log D. **231**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Procedência dos reagentes e solventes utilizados.	79
Tabela 2: Dados físicos e rendimentos dos compostos obtidos na família de ciclopaladados.....	100
Tabela 3: Dados de análise elementar para o dímero e monômeros.	101
Tabela 4: Principais bandas caracterizadas nos espectros de IV para o ligante tetrox, dímero $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})(\mu\text{-Cl})]_2$ e monômeros de fórmula geral $[\text{PdCl}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})\text{PR}_3]$	104
Tabela 5: Dados de RMN obtidos para o ciclopaladado JC1	115
Tabela 6: Dados de RMN obtidos para o ciclopaladado JC2	118
Tabela 7: Dados de RMN obtidos para o ciclopaladado JC3	122
Tabela 8: Dados de RMN obtidos para o ciclopaladado JC4	126
Tabela 9: Dados da coleta de dados cristalográficos do cristal e refinamento para o composto JC3	130
Tabela 10: Principais comprimentos e ângulos de ligação do composto JC3	131
Tabela 11: Contribuições das interações intermoleculares pela análise dos gráficos 2D.	134
Tabela 12: Dados referentes as ligações de hidrogênios identificadas na estrutura cristalina do composto JC3	137
Tabela 13: Dados físicos e rendimentos dos compostos obtidos na família de compostos de fórmula geral $[\text{PdCl}(\text{L1})\text{PR}_3]\text{Cl}$	143
Tabela 14: Dados de análise elementar (CHN) para os compostos da família de fórmula geral $[\text{PdCl}(\text{L1})\text{PR}_3]\text{Cl}$	143
Tabela 15: Dados de espectroscopia na região do infravermelho obtidos para o ligante L1 e seus respectivos complexos (J1-J4).	150
Tabela 16: Atribuições feitas por RMN para os átomos de hidrogênios e carbono presentes na estrutura do ligante L1	166
Tabela 17: Dados de RMN caracterizados para o complexo J1	175
Tabela 18: Dados de RMN caracterizados para o complexo J2	181
Tabela 19: Dados de RMN caracterizados para o complexo J3	186

Tabela 20: Dados de RMN caracterizados para o complexo J4	191
Tabela 21: Valores de IC_{50} obtidos pelo ensaio de MTT para os compostos JC1-4 , L1 , e J1-4 , frente as linhagens tumorais MCF-7 (mama), MDA-MB-231 (mama), A549 (pulmão) e a linhagem não tumoral MRC-5 (pulmão). Os índices de seletividade SI foram calculados pela relação IC_{50} MRC-5/ IC_{50} A549.	197
Tabela 22: Valores de IC_{50} do complexo J1 obtidos para as linhagens tumorais MCF-7 (mama), MDA-MB-231 (mama), A549 (pulmão), DU-145 (próstata), para a linhagem não tumoral MRC-5 (pulmão) e SI (IC_{50} MRC-5/ IC_{50} A549).....	201
Tabela 23: Valores de constante de afinidade de Stern-Volmer obtidos para o ligante L1 e para o complexo J1 em comparação ao valor reportado na literatura para o complexo DNA-Hoechst-33258.....	219
Tabela 24: Constantes de Stern-Volmer (K_{sv}) e taxa de supressão (K_b) para o complexo HSA- JC3 em diferentes temperaturas.	224
Tabela 25: Constante de ligação (K_b), o número de sítios de ligação (n) e parâmetros termodinâmicos para o complexo HSA- JC3 em diferentes temperaturas.	224
Tabela 26: Relação de resíduos-chave para as interações de JC3 e warfarina no sítio DS1 da HSA. Em vermelho estão indicadas as interações eletrostáticas e em azul, as interações hidrofóbicas.	227
Tabela 27: Dados obtidos para o experimento de determinação do log D para o ligante L1	230
Tabela 28: Dados obtidos para o experimento de determinação do log D para o complexo J1	231

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Representação dos estágios que compõem a ancogênese.....	38
Esquema 2: Estruturas dos organoarsênicos propostas por Ehrlich que compõem o fármaco <i>Salvarsan</i>	43
Esquema 3: Reações de hidratação da cisplatina para a formação de sua forma ativa.....	45
Esquema 4: Proposta de mecanismo de ação para a cisplatina e possíveis mecanismos de resistência ao fármaco.	48
Esquema 5: Esquema geral de compostos ciclometalados e ciclopaladados.	54
Esquema 6: Estrutura geral numerada e representação dos possíveis modos de coordenação de ligantes Tiossemicarbazonas.....	61
Esquema 7: Planejamento estrutural da série de ciclopaladados a partir do composto protótipo $[Pd(C^2,N\text{-aphox})(Cl)(L)]$	75
Esquema 8: Planejamento estrutural da série de complexos de Pd^{II} a partir do composto protótipo $[PdX(PPh_3)(TSC)]$	76
Esquema 9: Reação para a síntese do ligante <i>E</i> - α -tetralonaoxima (tetrox). ...	80
Esquema 10: Reações para a síntese do ligante vanilina-morfolina-etiltiossemicarbazona (L1).	81
Esquema 11: Reação de transciclometalação do dímero $[Pd(C^2-N\text{-dmba})(\mu\text{-Cl})]_2$ com o ligante tetrox.	82
Esquema 12: Reação de clivagem para a síntese dos compostos ciclopaladados de fórmula geral $[PdCl(C^2,N\text{-tetrox})PR_3]$	84
Esquema 13: Reação para a síntese dos complexos de Pd^{II} de fórmula geral $[PdCl(L1)PR_3]Cl$	85
Esquema 14: Mecanismo de substituição SN_2 adaptado para a funcionalização da vanilina com cloridrato de <i>n</i> -(2-cloroetil)morfolina.	138
Esquema 15: Mecanismo de reação geral para a obtenção de tiossemicarbazonas adaptado para a síntese do ligante L1	140
Esquema 16: Mecanismo de reação proposto para a reação de síntese dos complexos de fórmula geral $[PdCl(L1)PR_3]Cl$	142

Esquema 17: Numeração adotada para a caracterização da estrutura do ligante L1.	153
Esquema 18: Representação dos hidrogênios em posições axiais e equatoriais no anel morfolina, com a indicação dos respectivos deslocamentos químicos apresentados.....	162

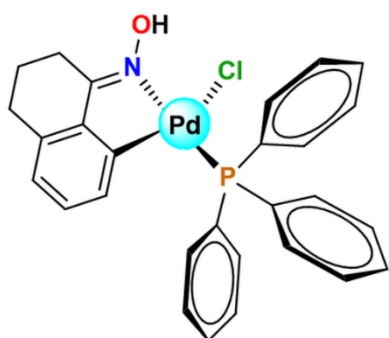
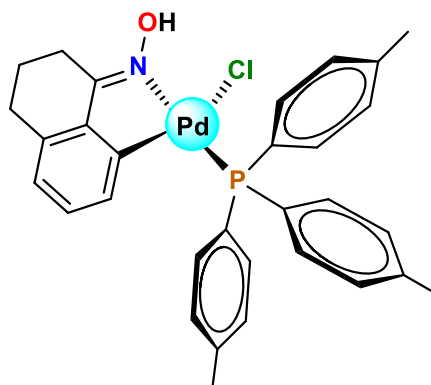
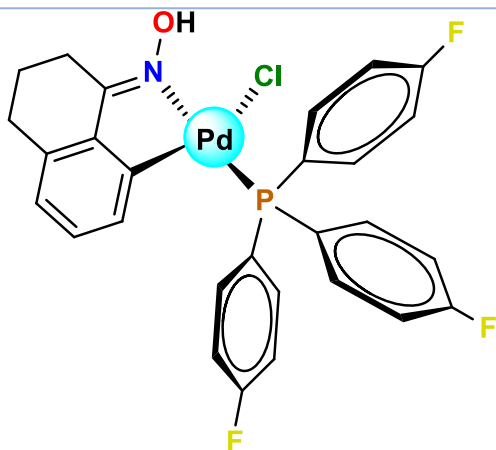
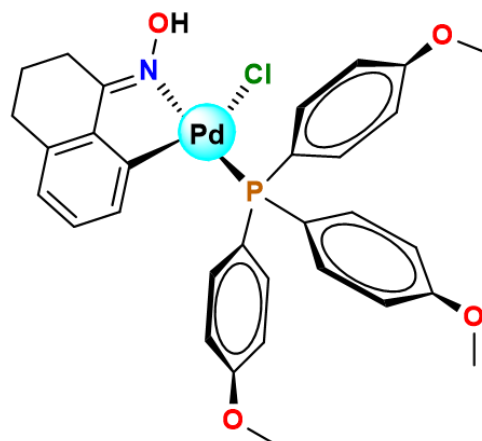
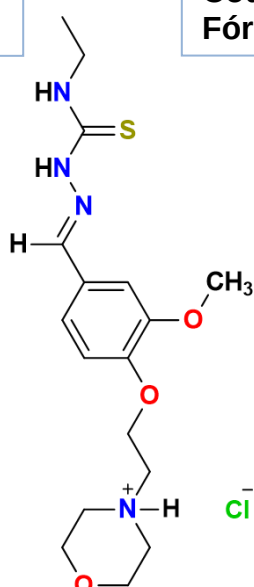
LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DEPT135 para o ligante tetrox.	276
Anexo 2: Espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DEPT135 para tris(4-fluoro-fenil)fosfina. ...	276
Anexo 3: Espectro Cosy $^1\text{H}-^1\text{H}$ para o para o ciclopaladado JC2 (14,1 T)....	277
Anexo 4: Mapa de contorno HSQC $^1\text{H}-^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o ciclopaladado JC2 (14,1 T).....	277
Anexo 5: Mapa de contorno HMBC $^1\text{H}-^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o ciclopaladado JC2 (14,1 T).....	278
Anexo 6: Espectro Cosy $^1\text{H}-^1\text{H}$ para o para o ciclopaladado JC3 (14,1 T)....	278
Anexo 7: Mapa de contorno HSQC $^1\text{H}-^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o ciclopaladado JC3 (14,1 T).....	279
Anexo 8: Mapa de contorno HMBC $^1\text{H}-^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o ciclopaladado JC3 (14,1 T).....	279
Anexo 9: Espectro Cosy $^1\text{H}-^1\text{H}$ para o para o ciclopadado JC4 (14,1 T).....	280
Anexo 10: Mapa de contorno HSQC $^1\text{H}-^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o ciclopaladado JC4 (14,1 T)).....	280
Anexo 11: Mapa de contorno HMBC $^1\text{H}-^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o ciclopaladado JC4 (14,1 T).....	281
Anexo 12: Regiões selecionadas da Superfície de Hirshfeld para o composto JC3 e os gráficos de impressão digital 2D relacionados.	281
Anexo 13: Vista parcial da estrutura cristalina do monômero JC3 na direção [010], formando uma cadeia de ligações de hidrogênio 1D ao longo do eixo cristalográfico c (código de simetria: x. y. -1 +z).	282
Anexo 14: Vista parcial da estrutura cristalina do composto JC3 mostrando as ligações de hidrogênio ao longo do eixo cristalográfico b, formando dímeros simetricamente relacionados aos padrões $R_2^2(8)$ e $R_2^2(14)$ (códigos de simetria -1+x. y. z).....	282
Anexo 15: Vista parcial da estrutura cristalina do composto JC3 mostrando as ligações de hidrogênio ao longo do eixo cristalográfico a (código de simetria: -1 +x. y. z).....	283

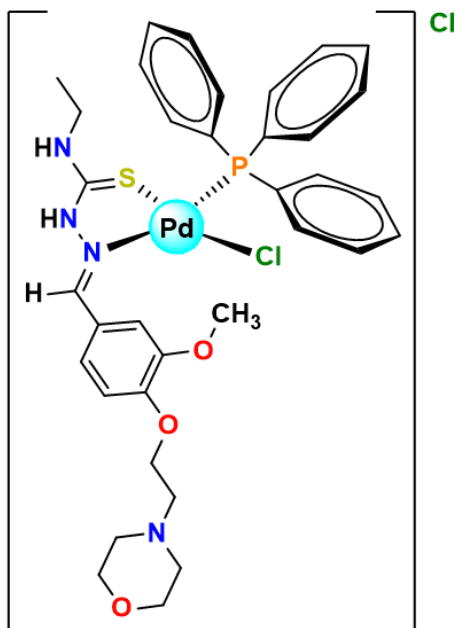
Anexo 16: Vista parcial da estrutura cristalina do composto JC3 apresentando as ligações de hidrogênio ao longo do eixo <i>b</i> formando dímeros simetricamente relacionados aos padrões $R_2^2(14)$ (código de simetria 1-x. 1-z).	283
Anexo 17: Mapa de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o complexo para o complexo J2 (14,1 T).	284
Anexo 18: Ampliação da região de hidrogênios aromáticos no mapa de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o complexo J2 (14,1 T).	284
Anexo 19: Mapa de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o complexo para o complexo J3 (14,1 T).	285
Anexo 20: Ampliação da região de hidrogênios aromáticos no mapa de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o complexo J3 (14,1 T).	285
Anexo 21: Mapa de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o complexo para o complexo J4 (14,1 T).	286
Anexo 22: Ampliação da região de hidrogênios aromáticos no mapa de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o complexo J4 (14,1 T).	286
Anexo 23: Espectro de RMN ^1H coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o ciclopaladado JC2 (14,1 T).	287
Anexo 24: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o ciclopaladado JC2 (14,1 T).	287
Anexo 25: Espectro de RMN ^1H coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o ciclopaladado JC3 (14,1 T).	288
Anexo 26: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o ciclopaladado JC3 (14,1 T).	288
Anexo 27: Espectro de RMN ^1H coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o ciclopaladado JC4 (14,1 T).	289
Anexo 28: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o ciclopaladado JC4 (14,1 T).	289
Anexo 29: Espectro de RMN ^1H coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o complexo J2 (14,1 T).	290
Anexo 30: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o complexo J2 (14,1 T).	290

Anexo 31: Espectro de RMN ^1H coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o complexo J3 (14,1 T).	291
Anexo 32: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o complexo J3 (14,1 T).	291
Anexo 33: Espectro de RMN ^1H coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o complexo J4 (14,1 T).	292
Anexo 34: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o complexo J4 (14,1 T).	292
Anexo 35: Sobreposição da estrutura cristalina obtida para o composto JC3 (com átomos em cores) e a estrutura minimizada pelo método PM7 (átomos em verde claro) (RMSD = 1.21 Å). Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza.....	293

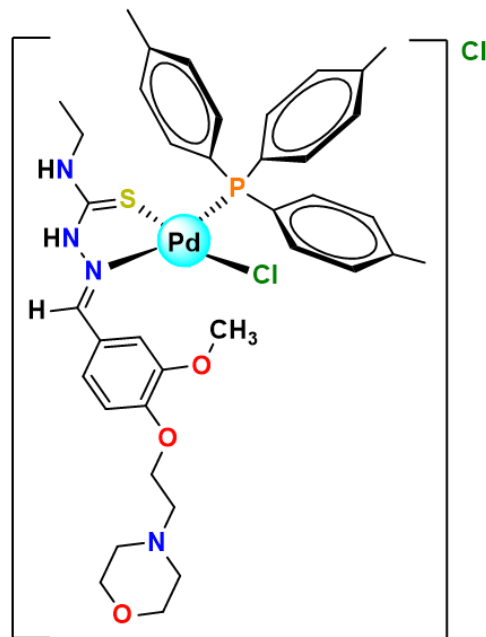
ESQUEMAS ESTRUTURAIS

Código: **JC1**Fórmula: $[\text{PdCl}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})(\text{PPh}_3)]$ Código: **JC2**Fórmula: $[\text{PdCl}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})(\text{P}(\text{PhCH}_3)_3)]$ Código: **JC3**Fórmula: $[\text{PdCl}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})(\text{P}(\text{PhF})_3)]$ Código: **JC4**Fórmula: $[\text{PdCl}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})(\text{P}(\text{PhOCH}_3)_3)]$ Código: **L1**

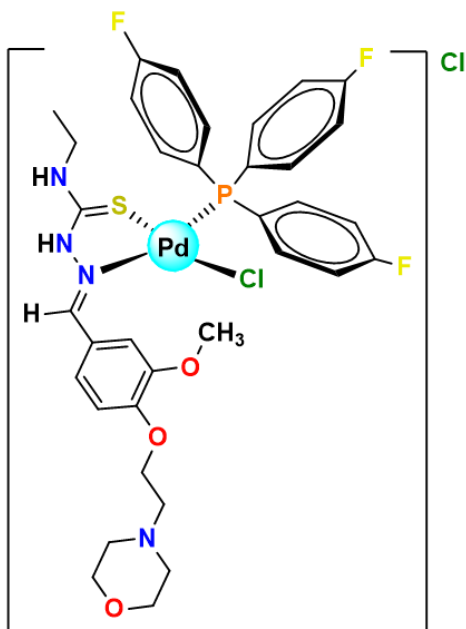
ESQUEMAS ESTRUTURAIS



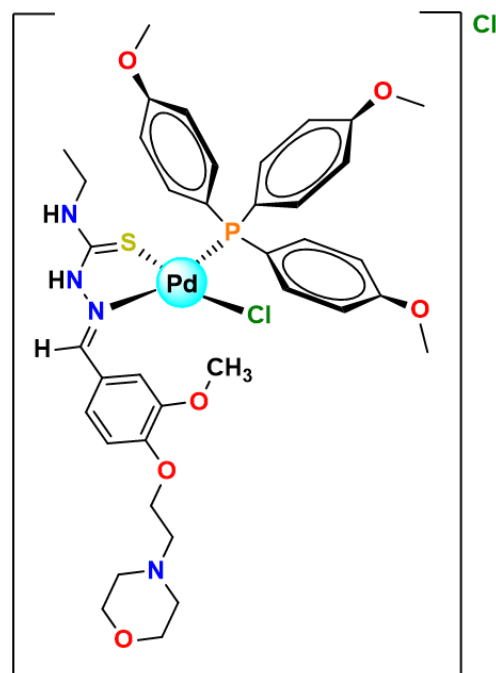
Código: **J1**
Fórmula: $[\text{PdCl}(\text{L1})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$



Código: **J2**
Fórmula: $[\text{PdCl}(\text{L1}(\text{P}(\text{PhCH}_3)_3)]\text{Cl}$



Código: **J3**
Fórmula: $[\text{PdCl}(\text{L1}(\text{P}(\text{PhF})_3)]\text{Cl}$



Código: **J4**
Fórmula: $[\text{PdCl}(\text{L1}(\text{P}(\text{PhOCH}_3)_3)]\text{Cl}$

SUMÁRIO

1. Justificativa.....	37
1.2 Câncer: definições e dados estatísticos.....	37
1.1 Química Inorgânica Medicinal.....	41
2. Referencial Teórico	53
2.1 Ciclopaladados: definição, estrutura e atividade antitumoral	53
2.2 Tiossemicarbazonas bioativas	60
2.3 Complexos de Pd ^{II} derivados de tiossemicarbazonas com ação antitumoral	66
3. Hipótese.....	73
4. Objetivos	77
4.1 Objetivo Geral	77
4.1 Objetivos específicos	77
5. Parte Experimental	78
5.1 Síntese dos compostos	79
5.1.1 Síntese dos Ligantes	79
5.1.1.1 Ligante: <i>E</i> - α -tetralonaoxima (Tetrox)	79
5.1.1.2 Ligante: Vanilina-morfolia-etiltiossemicarbazona (L1).....	80
5.1.2 Síntese dos Precursores metálicos.....	82
5.1.2.1 Precursor [Pd(<i>C</i> ² , <i>N</i> -tetrox)(μ -Cl)] ₂	82
5.1.2.2 Precursor [PdCl ₂ (CH ₃ CN) ₂].....	83
5.1.3 Síntese dos Complexos	83
5.1.3.1 Família de compostos ciclopaladados de fórmula geral [PdCl(<i>C</i> ² , <i>N</i> -tetrox)PR ₃].	83
5.1.3.2 Família de complexos de fórmula geral [PdCl(L1)PR ₃]Cl	84
5.2 Caracterização dos compostos	85
5.2.1 Análise Elementar (CHN).....	85
5.2.2 Espectroscopia na região do infravermelho (IV)	86
5.2.3 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)	86
5.2.4 Difração de raios X em monocristal (DRX)	86
5.2.5 Superfície de Hirshfeld (HS)	87
5.3 Estudo da ação antitumoral dos compostos <i>in vitro</i>	87
5.3.1 Estudo da estabilidade dos complexos em solução.....	87
5.3.2 Ensaio de atividade antioxidante (DPPH)	88

5.3.3 Ensaio de viabilidade celular (MTT)	88
5.3.4 Estudos de interação com o DNA	89
5.3.5 Estudos de interação com Albumina do soro humano (HSA)	92
5.3.6 Avaliação da Lipofilicidade dos compostos: determinação do coeficiente de distribuição (log D)	93
6. Resultados e Discussão	94
6.1 Síntese e caracterização da família de compostos ciclopaladados de fórmula geral $[PdCl(C^2,N-tetrox)PR_3]$	94
6.1.1 Espectroscopia na região do infravermelho (IV) para os ciclopaladados de fórmula geral $[PdCl(C^2,N-tetrox)PR_3]$	101
6.1.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear para os ciclopaladados de fórmula geral $[PdCl(C^2,N-tetrox)PR_3]$	106
6.1.3 Difração de raios X e Superfície de Hirshfeld para o complexo $[PdCl(C^2,N-tetrox)P(PhF)_3]$	126
6.2 Síntese e caracterização da família de compostos de fórmula geral $[PdCl(L1)PR_3]Cl$	137
6.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho (IV) para a família de compostos de fórmula geral $[PdCl(L1)PR_3]Cl$	144
6.2.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear para a família de compostos de fórmula geral $[PdCl(L1)PR_3]Cl$	152
6.3 Estudo da ação antitumoral dos compostos	191
Estudo da estabilidade em solução para os complexos	192
Atividade antiproliferativa (MTT)	195
Ensaio de atividade antioxidante (DPPH)	203
Estudos de interação com o DNA	208
Estudos de interação com HSA	221
Determinação do coeficiente de distribuição (log D)	228
7. Considerações Finais	232
8. Referências	238
9. Anexos	276

1. Justificativa

1.2 Câncer: definições e dados estatísticos

A células normais, que formam os tecidos do corpo, naturalmente passam por processos ordenados de crescimento, multiplicação e morte. Quando os mecanismos de morte celular são afetados e as células normais multiplicam-se desordenadamente, tem-se caracterizado o quadro de Câncer [1,2]. Câncer é um termo genérico que designa um conjunto de mais de 100 doenças caracterizadas pelo crescimento desordenado de células que levam a formação de tumores. Por sua natureza, essa condição pode atingir as células de qualquer tecido, podendo transpor partes adjacentes, espalhando-se para outros órgãos, o que define o processo de metástase o qual representa a maior causa de morte por câncer [1,3,4].

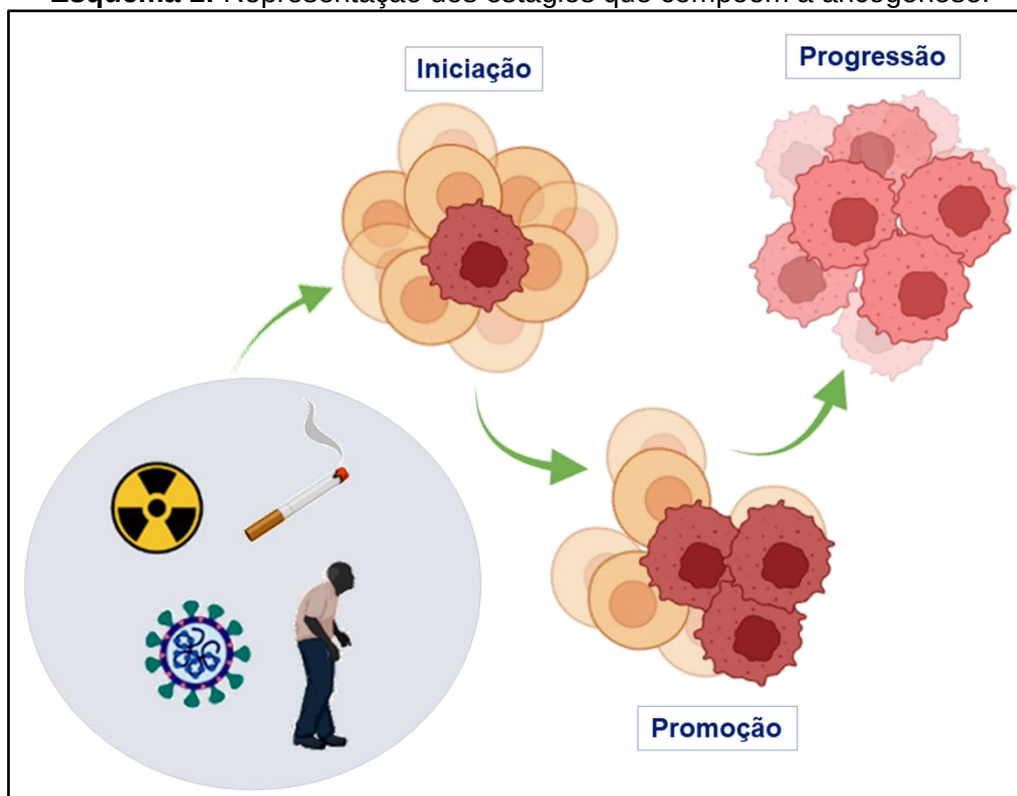
O desencadeamento do crescimento celular desordenado ocorre por uma modificação no DNA (mutação genética) cujos genes alterados enviam instruções errôneas para a célula. Quando estes genes alterados fazem parte do processo de crescimento celular, como os proto-oncogenes, as mutações resultam em falhas no processo natural de multiplicação e morte [1,5].

A progressão tumoral ocorre geralmente de forma lenta, via um processo, composto por três estágios, denominado como carcinogênese ou oncogênese [5]. Assim, a carcinogênese é composta pelo estágio de iniciação, promoção e progressão (**Esquema 1**). No primeiro estágio, de iniciação, ocorre a exposição dos genes a ação de agentes carcinogênicos. Na sequência, na etapa de promoção, os proto-oncogenes agem sob a célula alterada levando ao último estágio, de progressão, onde a célula multiplica-se de forma descontrolada e irreversível [1,5,6].

O estágio de iniciação está diretamente relacionado a fatores genéticos combinados a exposição cumulativa à agentes carcinogênicos externos. Exemplos destes agentes são a exposição à radiação UV e ionizante, componentes da fumaça do tabaco, substâncias contaminantes presentes na água e alimentos, infecções causadas por certos vírus, bactérias ou parasitas,

dentre outros. Além disso, constata-se um aumento na incidência de câncer com o envelhecimento, sendo esta relacionada a menor eficácia dos mecanismos naturais de reparo celular que podem levar a mutações [5,7–10].

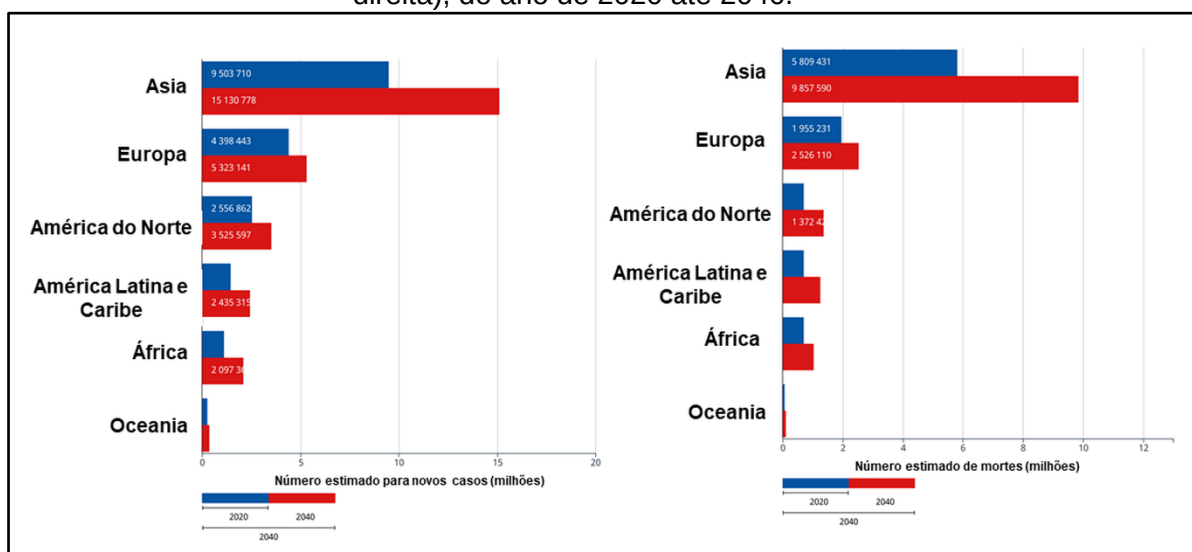
Esquema 1: Representação dos estágios que compõem a oncogênese.



Fonte: Adaptado de Câncer, 2012 [1].

Dessa forma, os fatores que levam ao desencadeamento do câncer estão associados ao desenvolvimento econômico dos países, onde o crescimento e envelhecimento da população mundial refletem no aumento rápido e progressivo no número de casos e na mortalidade relacionada a essa patologia. Segundo o Observatório Global de Câncer (GLOBOCAN) da Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC), estima-se um aumento aproximado de 56 % no número de casos e de 63 % para o número de mortes no ano de 2040 (nº de casos: 30,2 milhões; nº mortes: 16,3 milhões), em comparação ao registrado para o ano de 2020 (nº de casos: 19,3 milhões; nº mortes: 9,96 milhões) (**Figura 1**)[11].

Figura 1: Número estimados de novos casos de Câncer (a esquerda) e de mortes (a direita), do ano de 2020 até 2040.

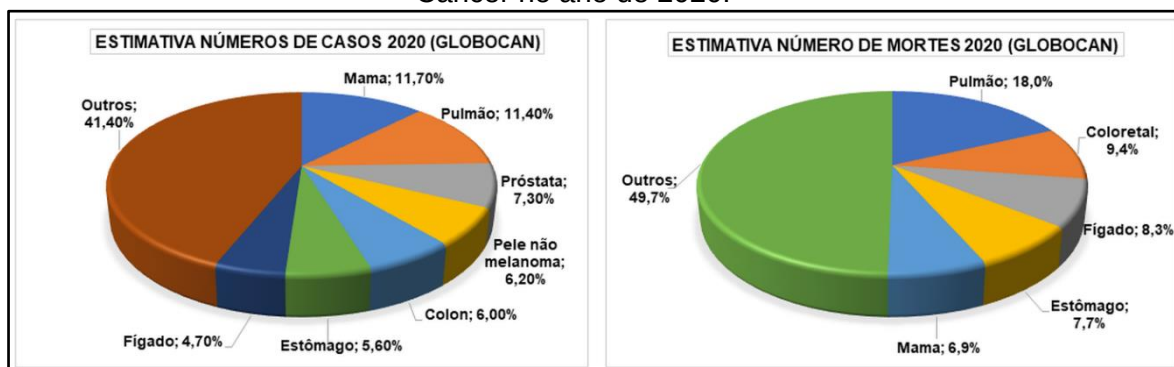


Fonte: Adaptado de Global Cancer Observatory, 2021[11].

Dentro disso, neoplasias representam um obstáculo para o aumento da expectativa de vida mundial, sendo considerada pela Organização Mundial da Saúde (WHO) uma das 5 maiores causas de morte em pessoas com idade superior a 70 anos. No Brasil, segundo dados do DATASUS do Ministério da Saúde, no ano de 2019, as neoplasias representaram a segunda maior causa de morte (235.301), sendo superadas apenas por doenças do aparelho circulatório (364.132)[12].

Quanto a distribuição do número de novos casos para cada tipo de câncer, de acordo com estimativas da GLOBOCAN para 2020, o câncer de mama e pulmão apresentam-se como os de maior incidência dentre homens e mulheres, representando 11,7 e 11,4 % dos casos reportados, respectivamente. Quando analisados os níveis de mortalidade, o câncer de pulmão mostra-se como o mais letal, computando aproximadamente 18 milhões de ocorrências (18 %), enquanto o número de mortes por câncer de mama representa 6,9 % do total (Figura 2)[13].

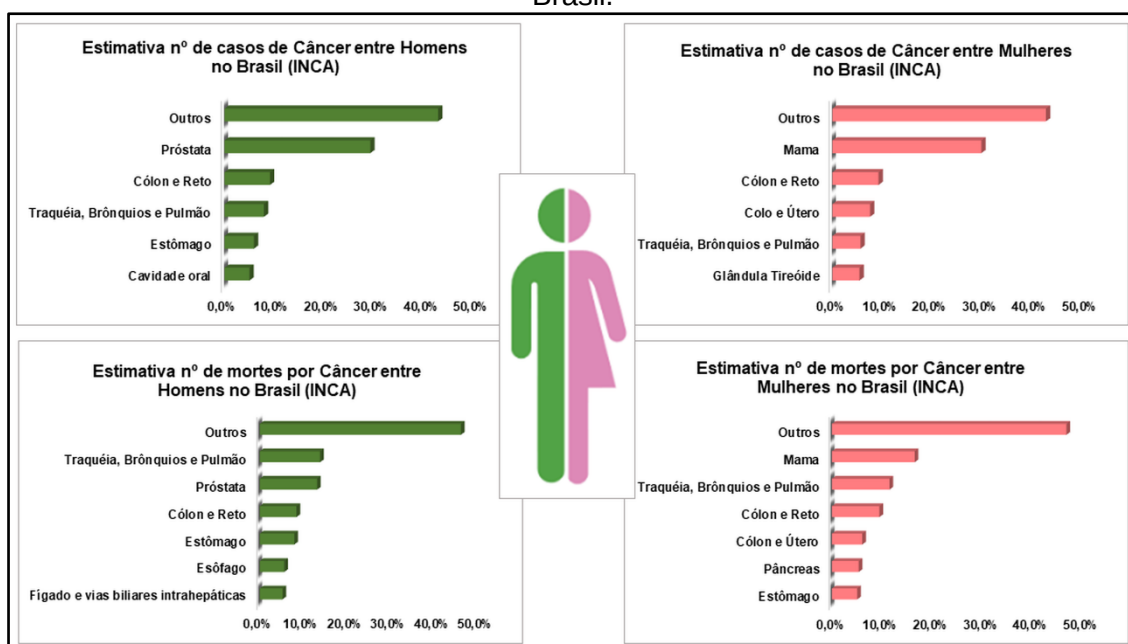
Figura 2: Gráficos representando estimativas para o número de casos e mortes por Câncer no ano de 2020.



Fonte: Adaptado de Global Cancer Observatory, 2021[11] e Sung, 2021 [13].

Para o Brasil, em 2020, conforme estimativas do Instituto Nacional do Câncer (INCA), os cânceres de próstata e mama mostraram-se como os de maior incidência representando 29,2 e 29,7 % do total de casos para homens e mulheres, respectivamente. Com relação ao número de mortes, em 2019, o câncer de traqueia, brônquios e pulmão apresentou-se como o mais letal para os homens no Brasil, correspondendo a 13,8 % do total, enquanto o câncer de mama apresentou maior morbidade dentre as mulheres brasileiras, representando 16,4 % do total de mortes por neoplasias (Figura 3)[14].

Figura 3: Gráficos com estimativas para o número de casos de Câncer em 2020 e, para o número de mortes por Câncer no ano de 2019, entre homens e mulheres no Brasil.



Fonte: Adaptado de Câncer, Instituto Nacional de, 2021[14].

Mesmo o câncer sendo considerado um dos grandes problemas para a saúde mundial, conforme os dados apresentados demonstram, até então não existe um tratamento que seja completamente adequado e eficaz para essa doença. Apesar disso, quando ocorre o diagnóstico precoce para alguns tipos de câncer, os tratamentos existentes mostram-se bastante eficazes, aumentando a qualidade de vida do paciente e diminuindo as chances de morte. Os principais recursos terapêuticos empregados atualmente são a radioterapia, imunoterapia, cirurgia e quimioterapia, sendo esta última amplamente utilizada [1].

A quimioterapia consiste na administração de fármacos denominados como antineoplásicos ou quimioterápicos, com o objetivo de redução do quadro tumoral [1]. É neste sentido que a pesquisa em Química Medicinal, bem como na Química Inorgânica Medicinal, tem demonstrado expressivamente a sua contribuição, na busca e investigação de novas moléculas bioativas que possam funcionar como fármacos antineoplásicos mais eficientes e que acarretem menores efeitos colaterais ao organismo [15–19].

1.1 Química Inorgânica Medicinal

A utilização de compostos inorgânicos na terapia, tratamento e diagnóstico de doenças deu origem a área de Química Inorgânica Medicinal [20]. Essa subdivisão da Química Bioinorgânica apresenta-se ainda incipiente quando comparada a aplicação medicinal de compostos orgânicos, porém o crescimento das pesquisas em metalofármacos tem auxiliado na aprovação do uso clínico destes compostos[21].

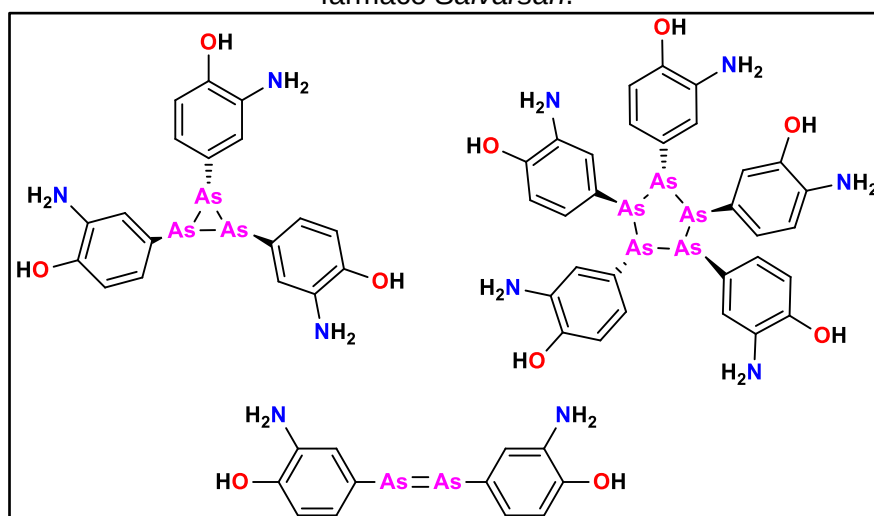
Apesar da relativa condição inicial da área de Química Inorgânica Medicinal, o uso terapêutico de íons metálicos remonta 5000 anos atrás, com as primeiras civilizações da Mesopotâmia, Egito, Índia e China [20]. Os primeiros relatos remetem a 3000 a.C, com os egípcios utilizando vasilhas de cobre para esterilização da água e, concomitantemente, na Árabia e na China eram aplicados diversos fármacos à base de ouro. Medicamentos contendo ferro e zinco já eram utilizados no Egito por volta de 1500 a.C, mesmo com o desconhecimento da essencialidade destes íons metálicos naquele período.

Sais de mercúrio eram utilizados também como diuréticos na era Renascentista da Europa [20,22]. Nestes primórdios, a utilização de íons metálicos para fins medicinais baseava-se unicamente na natureza preciosa dos metais, com a ausência de estudos com abordagem medicinal propriamente dita.

O advento das pesquisas inovadoras e revolucionárias propostas por Alfred Werner em 1893, acerca da estrutura de complexos metálicos, propiciou uma compreensão inicial a respeito da natureza das ligações coordenadas e da estereoquímica de compostos de coordenação [23–25]. Esse conhecimento deu início ao estudo estrutural desses compostos visando aplicações específicas como na área medicinal. Com isso, o início de fato da investigação medicinal de compostos inorgânicos inicia-se por volta de 1900, com a descoberta da ação antimicrobiana de sais de ouro e antimônio e com a aplicação do complexo $K[Au(CN)_2]$ no tratamento de tuberculose [22]. Apesar do grande avanço, as relações estrutura/atividade de compostos inorgânicos ainda eram desconhecidas.

Em 1912 foi reportada a ação antimicrobiana, frente a bactéria *Treponema pallidum* associada a doença de sífilis, do fármaco *salvarsan* (arsenoamina, Ehrlich 606), por Paul Ehrlich [26]. Este organoarsênico é considerado o primeiro metalofármaco, que consistia de uma mistura de compostos organometálicos derivados de 3-amino-4-hidroxifenil-arsênio(III), representados no **Esquema 2** [20,27]. Este fármaco teve a sua ação terapêutica para o tratamento de sífilis comprovada a partir dos primeiros estudos de relações estrutura/atividade para compostos inorgânicos, além de seu estudo marcar o início da quimioterapia moderna [22,28]. Apesar desse fármaco ter sido substituído pela penicilina após a II Guerra Mundial, o *Salvarsan* representou um importante marco para a área de Química Inorgânica Medicinal, o qual impulsionou a investigação do uso terapêutico de novos compostos a base de metais e metalóides [20].

Esquema 2: Estruturas dos organoarsênicos propostas por Ehrlich que compõem o fármaco *Salvarsan*.



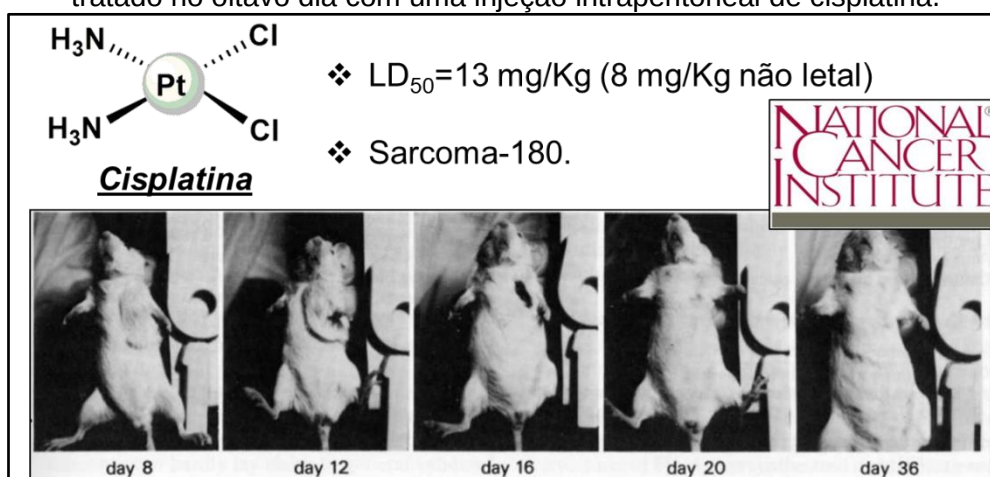
Fonte: Adaptado de Mjos, 2014 [20]

Depois da contribuição dos organoarsênicos para o nascimento das bases da química inorgânica medicinal, a descoberta da ação antitumoral de compostos de platina representa um marco importante para o nascimento da química inorgânica medicinal. Em 1965, ao estudar o efeito da corrente elétrica sob cepas de *Escherichia coli*, Barnett Rosenberg e Loreta VanCamp descobrem a ação antiproliferativa do composto *cis*-diaminodicloroplatina(II), posteriormente nomeado como cisplatina [29–32]. De princípio a estrutura desse composto era desconhecida, uma vez que este foi gerado de forma não intencional pela combinação dos produtos das reações de eletrólise dos próprios eletrodos de Pt utilizados no experimento, com os íons Cl^- e NH_4^+ provenientes dos sais presentes no meio de cultura [30,33]. A partir das proposições de estruturas possíveis para essa espécie, descobriu-se que essa já havia sido reportada por Michele Peyrone, em 1845, sendo conhecida como “clorido de Peyrone”, de fórmula *cis*[PtCl₂(NH₃)₂] [32,34].

Assim, após diversos experimentos teste, constatou-se que a inibição da divisão celular observada era ocasionada pela geração do composto *cis*[PtCl₂(NH₃)₂] no meio de cultura da bactéria [29,35]. Como o complexo apresentou a habilidade de interromper o processo de divisão celular na bactéria em concentrações não tóxicas, levantou-se a hipótese de que essa espécie poderia igualmente interromper o processo de divisão celular em tumores, não

ocasionando danos ao hospedeiro. A partir de experimentos *in vivo* em camundongos com sarcoma-180, observou-se a redução total dos tumores nos animais no período de 6 dias após o tratamento com cisplatina, fazendo com que a hipótese formulada fosse aceita (**Figura 4**)[31,36]. Com isso, a ação antitumoral da cisplatina foi comprovada, representando um marco na área de Química Inorgânica Medicinal, despertando o interesse da comunidade científica para estudos voltados a descoberta de novos metalofármacos não só para a terapia do câncer, mas para o tratamento de outras doenças até os dias atuais. Dentre estas doenças pode-se citar a artrite, doenças microbianas e parasitárias, doenças gastrointestinais, tuberculose, doenças neurodegenerativas e até mesmo doenças virais como a COVID-19 [20,21,27,37–41].

Figura 4: Sequência de fotografias de camundongo com tumores de Sarcoma-180 tratado no oitavo dia com uma injeção intraperitoneal de cisplatina.

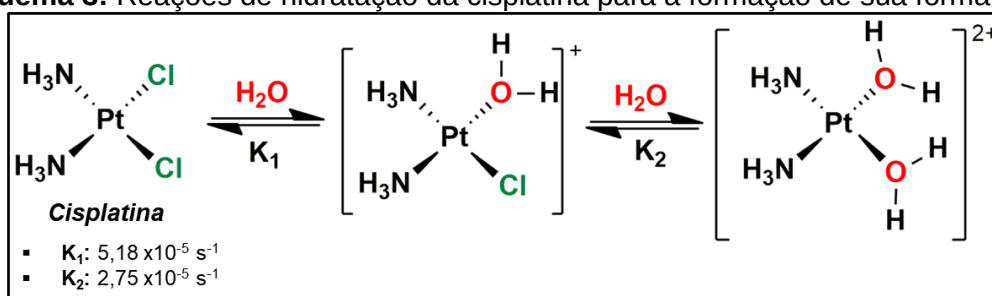


Fonte: Adaptado de Rosenberg,1978 [31].

A descoberta inesperada da ação antitumoral da cisplatina mostrou-se pioneira sob diversos aspectos, foi o primeiro metalofármaco a conquistar a aprovação pela FDA (Food and Drug Administration), em 1978, para o uso clínico no tratamento de câncer de testículo, cuja chance de cura neste caso apresentou-se superior a 95 %. Além da ação antitumoral para câncer de testículo, apresentou-se ativa frente a aproximadamente 16 tipos de câncer, como de ovário, pescoço, pulmão, colorretal e bexiga impulsionando os primeiros estudos concretos acerca da proposição de mecanismos de ação para metalofármacos [32,42,43].

Os estudos da forma de ação da cisplatina levaram a propor relações estrutura/atividade e a destacar a importância da estereoespecificidade do composto no desencadeamento da ação terapêutica. Pode-se inferir que os complexos com isomeria *cis* apresentavam-se ativos, enquanto os de isomeria *trans*, inativos [31,32,44]. Logo concluiu-se que as reações em meio biológico dependiam intimamente da estrutura dos complexos de Pt^{II}. Sob a luz dos conhecimentos acerca da força de ligações coordenadas, labilidade e força de ligantes, se propôs que a forma ativa para a cisplatina era na realidade um aquocomplexo, onde os ligantes clorido seriam substituídos por ligante aquo presentes no meio celular e ainda que essa troca de ligantes seria propiciada pela diferença de concentração de íons cloro no meio intra e extracelular ($[Cl^-]_{\text{extra.}} = 100 \text{ mM}$; $[Cl^-]_{\text{intra.}} = 4 \text{ mM}$) [31]. Mais recentemente, elucidou-se que esse processo de troca de ligantes sofre também a influência do pH do meio, sendo favorecida em meios levemente ácidos, como o ambiente de células tumorais ($\text{pH} < 7,0$) (**Esquema 3**) [45].

Esquema 3: Reações de hidratação da cisplatina para a formação de sua forma ativa.



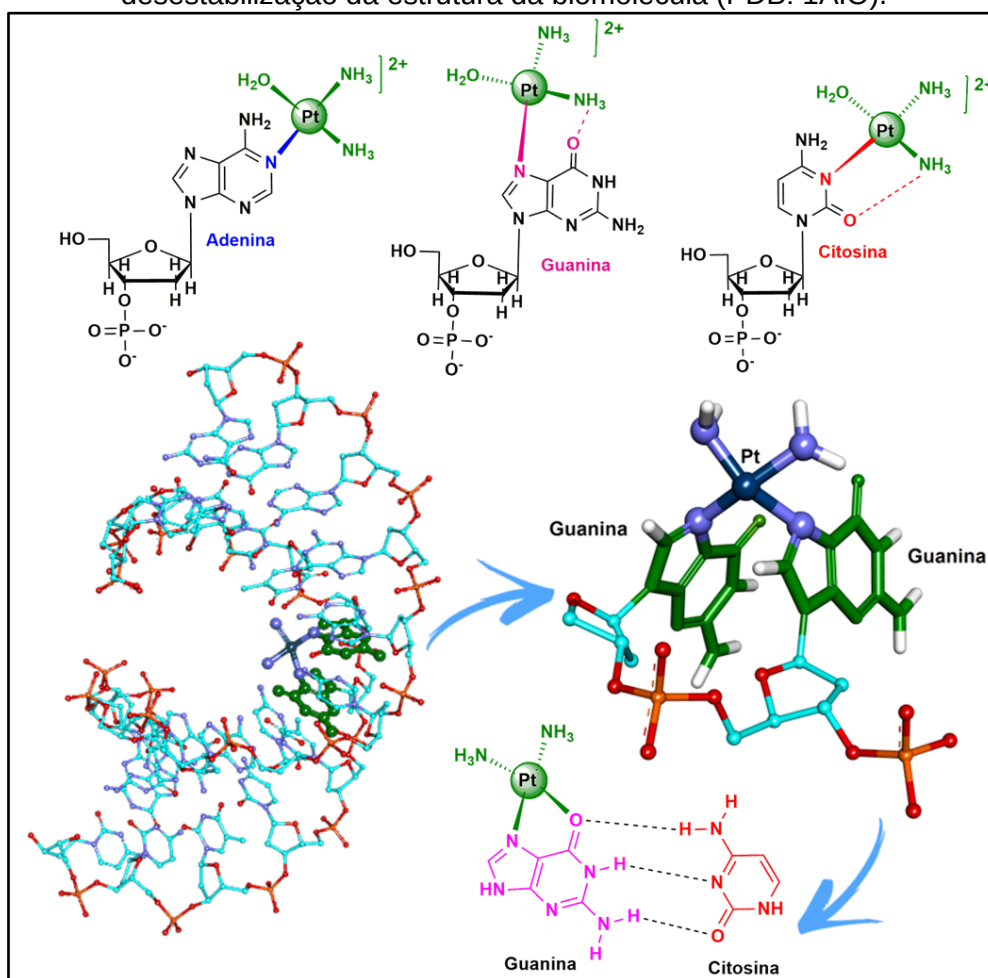
Fonte: Adaptado de Ahmad, 2017 [45].

Neste contexto de investigação de relações estrutura/atividade, constatou-se que existia uma semelhança da distância entre os ligantes clorido na estrutura da cisplatina (3,4 Å) com a distância entre as duplas fitas do DNA, o que suportou a hipótese de esta biomolécula poder representar o alvo terapêutico para esse metalofármaco [44]. Dentro disso, a investigação da forma de interação da cisplatina com o DNA foi influenciada pelo mecanismo de ação já elucidado para as mostardas nitrogenadas, reconhecidamente fármacos que funcionavam como agentes alquilantes do DNA [46].

O mecanismo de ação das mostardas nitrogenadas baseava-se na interação com guaninas interfita e, dessa forma, um mecanismo de interação semelhante foi apontado para a cisplatina [46]. Com base nessa proposta, aliado aos conceitos de bases e ácidos moles e duros de Pearson que classifica grupos fosfatos (PO_4^{2-}) como sendo bases duras, os nitrogênios das bases nitrogenadas, como bases intermediárias, e a Pt^{II} , como um ácido mole, foi proposto a formação de adutos mono e bifuncionais intra e interfita entre a cisplatina e as bases nitrogenadas adenina, guanina e citosina [31]. A hipótese era de que a formação desses adutos causaria uma desestabilização da estrutura do DNA (**Figura 5**) [47].

Com a determinação estrutural por DRX da interação da cisplatina com o DNA, em 1995 (PDB: 1AIO), foram aceitas as hipóteses levantadas para a explicação quanto ao mecanismo de interação, demonstrando que a interação interfita com as bases guanina representam os principais adutos formados, levando a uma desestabilização da estrutura do DNA em 6,3 Kcal/mol (**Figura 5**)[47,48].

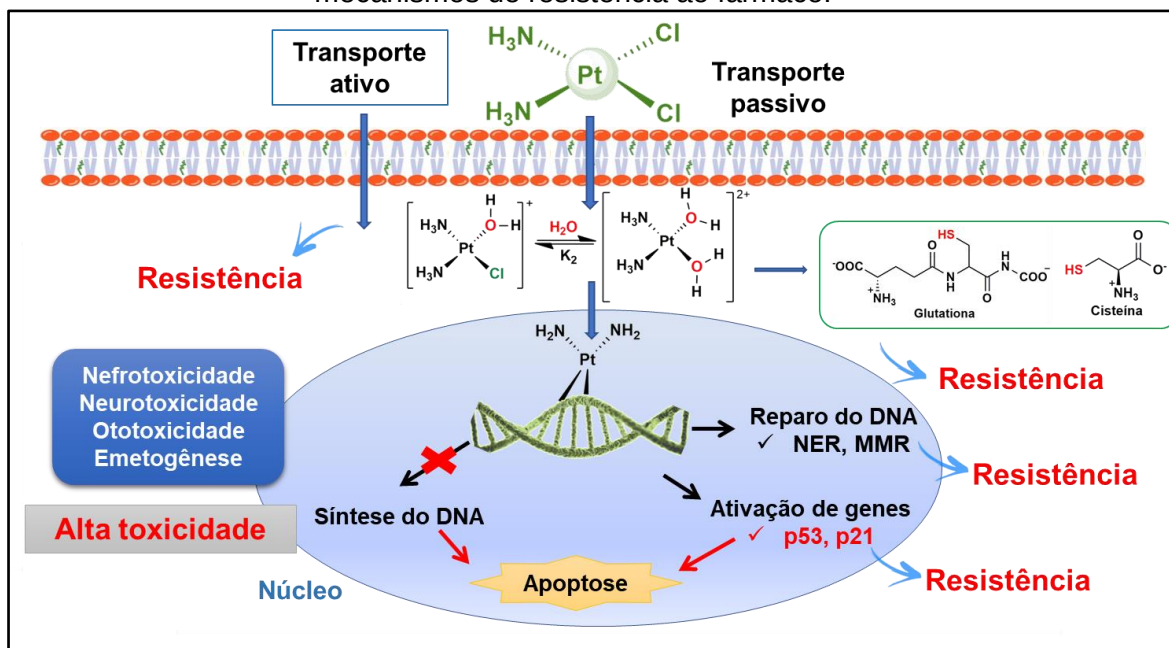
Figura 5: Representação dos adutos formados entre o DNA e a cisplatina, levando a destabilização da estrutura da biomolécula (PDB: 1AIO).



Fonte: Adaptado de Bergamo, 2018 [47] e Takahara, 1995 [48].

A associação dos conhecimentos adquiridos com relação a forma ativa da cisplatina, formas de entrada de compostos nas células e dos modos de interação com o DNA levaram a proposição do mecanismo de ação antitumoral para a cisplatina, até então aceito [32]. O mecanismo proposto inicia pela entrada do metalofármaco na célula por meio de transporte ativo ou passivo, através da membrana celular. No meio citoplasmático, pela diferença de concentração de íons cloreto nos meios intra (menos concentrado) e extracelular (mais concentrado), ocorre a troca dos ligantes cloreto por ligantes aquo, transformando a cisplatina em sua forma ativa. A forma ativa atravessa a membrana nuclear e interage com o DNA pela formação de adutos, principalmente com as guaninas interfitas, impedindo a síntese do DNA e levando a célula a morte por mecanismos de apoptose (**Esquema 4**) [31,43,47].

Esquema 4: Proposta de mecanismo de ação para a cisplatina e possíveis mecanismos de resistência ao fármaco.



Fonte: Adaptado de Dilruba, 2016 [42] e Deo, 2018[43].

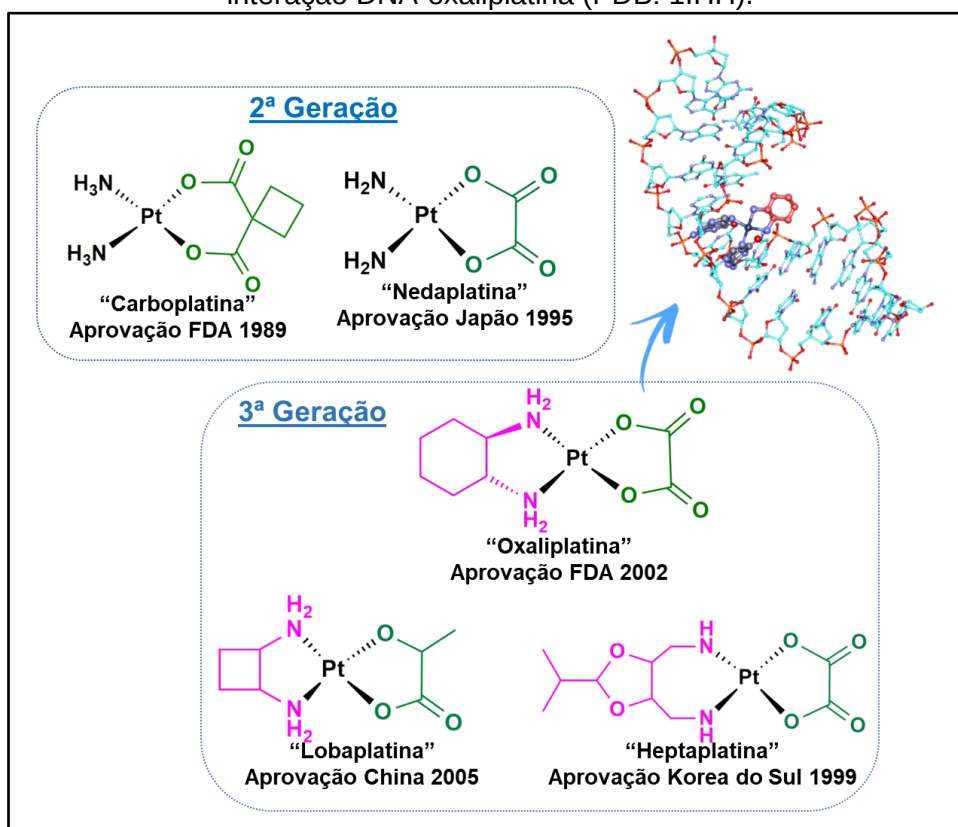
A proposição do mecanismo de ação permitiu, além de descrever a forma de ação do metalofármaco, buscar justificativas para as problemáticas de alta toxicidade e resistência adquirida frente a algumas linhagens tumorais, apresentadas pelo tratamento com cisplatina. Existem múltiplos mecanismos que podem levar a resistência das células tumorais a ação da cisplatina, como no próprio mecanismo de transporte ativo e a presença de biomoléculas como glutamina e cisteína, potenciais agentes coordenantes, que podem ocasionar a expulsão do metalofármaco antes de este atingir o alvo terapêutico [42]. Além disso, os mecanismos de reparo do DNA, podem restaurar os danos causados pela interação com o metalofármaco, revertendo a desestabilização da estrutura do DNA, impedindo o desencadeamento dos mecanismos apoptóticos. Ainda, a ativação de genes específicos que impedem a apoptose pode representar fatores de resistência [43].

Os efeitos tóxicos, como nefrotoxicidade, neurotoxicidade, ototoxicidade e emetogênese apresentados pela administração de cisplatina, estão associados a própria natureza da ação terapêutica do metalofármaco [42]. O processo de troca dos ligantes clorido por ligantes aquo na esfera de

coordenação do complexo apresenta cinética rápida ($K_1 = 5,18 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$; $K_2 = 2,75 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$), fazendo com que a forma ativa da cisplatina seja altamente reativa, podendo coordenar-se a biomoléculas citoplasmáticas não alvo [45]. Adicionalmente, o principal alvo terapêutico da cisplatina, o DNA, é um alvo inespecífico. Essas condições têm por consequência a baixa seletividade apresentada pelo metalofármaco, que, ao atingir o DNA de células de alta proliferação não tumorais, ou biomoléculas não alvo, desencadeiam efeitos colaterais ao paciente [42].

Os fatores de resistência e toxicidade são os maiores problemas associados ao tratamento com cisplatina, e igualmente representam limitações que impulsionam a descoberta de novos metalofármacos que possam solucionar ou amenizar estes problemas [49,50]. Foi nesse sentido que surgiram os fármacos de platina(II) de segunda e terceira geração (**Figura 6**) [43]. Os fármacos de Pt^{II} de segunda geração, representados pela carboplatina, foram planejados racionalmente visando a redução dos efeitos colaterais tóxicos, a partir da substituição dos ligantes clorido por ligantes quelato carboxila mais estáveis que diminuíssem a velocidade de substituição por ligantes aquo no meio citoplasmático ($K_{(\text{carboplatina})} = \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$; $K_{(\text{cisplatina})} = \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$). Essa estratégia estrutural de fato chegou à redução da neurotoxicidade e ototoxicidade com a administração de carboplatina, o qual é aprovado para o tratamento de câncer de ovário. Porém, em função da menor reatividade apresentada pela carboplatina, é necessário a administração de doses maiores em comparação a cisplatina (Carboplatina: 300-450 mg/m^2 ; Cisplatina: 20-120 mg/m^2)[49].

Figura 6: Fármacos análogos de Pt^{II} de 2ª e 3ª geração e estrutura cristalina da interação DNA-oxaliplatina (PDB: 1IHH).



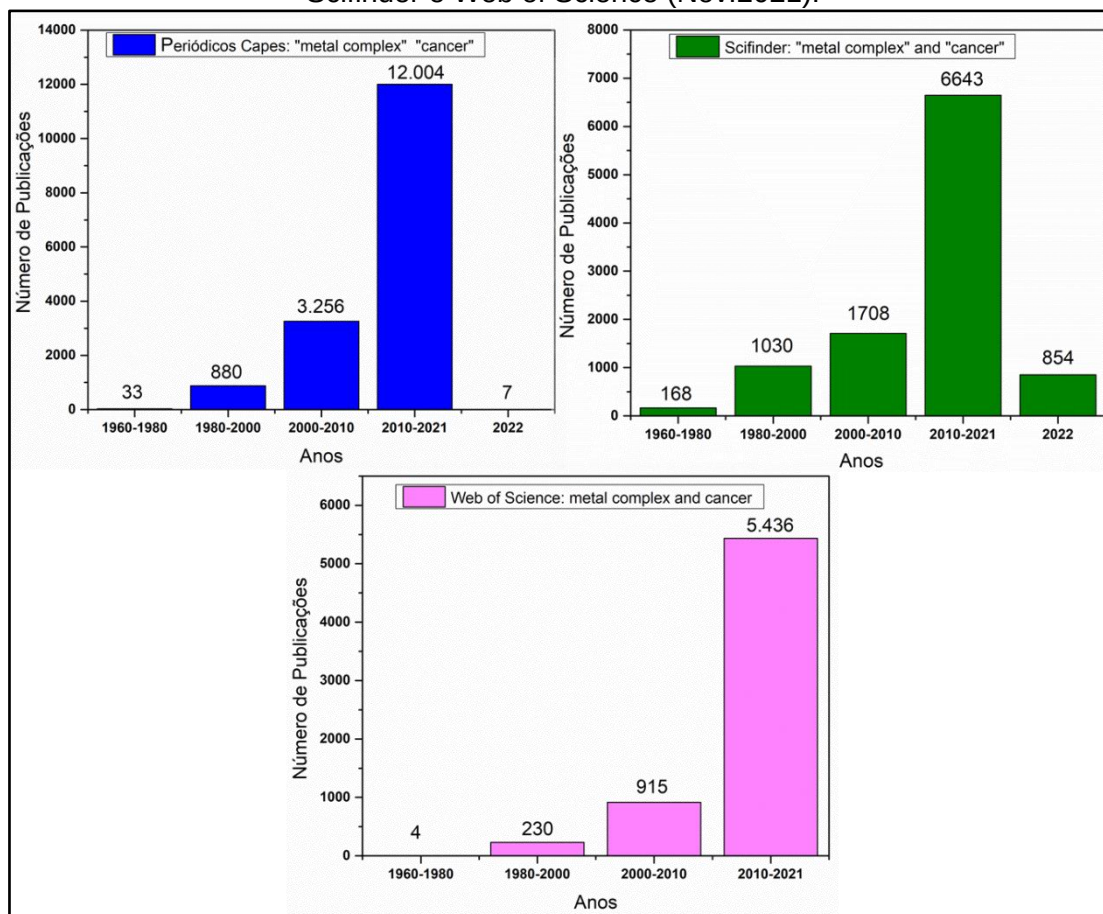
Fonte: Adaptado de Wheate, 2010 [49] e Spingler, 2001[51].

Já os fármacos de Pt^{II} de terceira geração foram planejados estruturalmente com o intuito de superar os mecanismos de resistência associados a cisplatina [43]. O fármaco oxaliplatina é o representante dessa série de análogos onde além da substituição dos ligantes clorido por um ligante quelante carboxila, é proposto a substituição dos ligantes amin pelo ligante diaminociclohexano. A porção cíclica adicionada a estrutura do complexo propicia interações nas regiões de sulco do DNA, além da formação dos adutos com as bases guanina intrafita [49,51]. Esse modo diferenciado de interação com o alvo terapêutico dificulta a ocorrência de mecanismos de reparo do DNA que são fatores que levam a resistência de algumas linhagens tumorais a cisplatina. Essa estratégia mostrou-se assertiva e o tratamento com oxaliplatina para o câncer colorretal metastático, que apresenta resistência a cisplatina, foi aprovado [42,49].

Além dos complexos baseados em Pt^{II}, a busca por melhores alternativas ao tratamento com cisplatina, revertendo efeitos tóxicos e fatores de resistência,

levou a investigação de compostos candidatos a metalofármacos baseados em outros metais, como rutênio, paládio, prata, níquel, gálio, titânio, dentre outros [25,52–55]. A versatilidade estrutural de compostos de coordenação, em que diferentes ligantes, muitas vezes inerentemente bioativos, podem ser combinados à diversos núcleos metálicos, conduziu a uma diversidade de complexos que apresentam ação antitumoral em ensaios pré-clínicos e clínicos reportados na literatura. Essa colocação pode ser constatada pelos gráficos de barras na **Figura 7** que relaciona o número de publicações associadas aos termos “metal complex” e “cancer” de 1960 (década em que foi reportada a ação antitumoral da cisplatina) até os dias atuais.

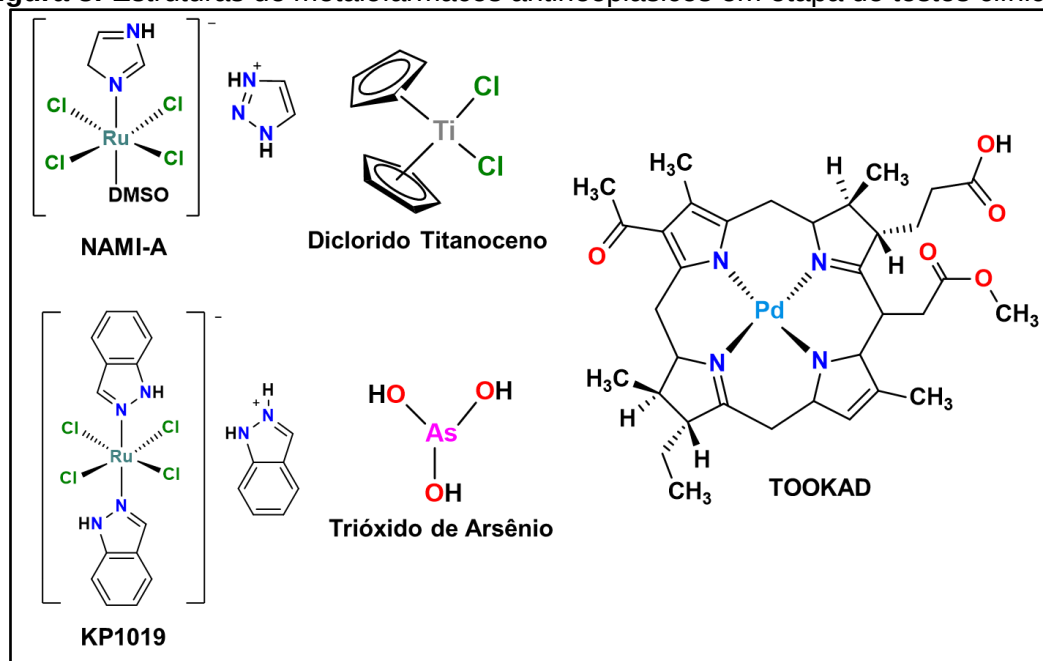
Figura 7: Gráficos de barras que relacionam o número de publicações associadas aos termos “metal complex” e “câncer” para as plataformas de busca: Periódicos Capes, Scifinder e Web of Science (Nov.2021).



Fonte: Plataformas de busca: Periódicos Capes, Scifinder e Web of Science.

Atualmente mais de 50 % dos tratamentos quimioterápicos para câncer utilizam fármacos de Pt^{II} e ainda uma quantidade crescente de metalofármacos não baseados em platina têm sido encaminhados à testes clínicos (**Figura 8**)[52,56]. Exemplos destes compostos são os complexos de $Ru(III)$ derivados de ligantes imidazol, o imidazol *trans*-[tetraclorido(dimetilsulfoxidoimidazolrutenato(III))] (NAMI-A) e o indazol *trans*-[tetracloridobis(1*H*-indazol)rutenato(III)] (KP1019), que encontram-se em Fase I de estudos clínicos como agentes antimetastáticos e antineoplásicos [57]. Ainda nesse sentido, pode-se citar os complexos de As^{III} e Ti^{IV} , o trióxido de arsênio(III) (ATO) e o composto organometálico diclorido titanoceno, respectivamente. O trióxido de arsênio(III) teve seu uso clínico aprovado contra leucemia promielocítica aguda, enquanto o diclorido titanoceno encontra-se em Fase I/II dos testes clínicos [39,57]. Recentemente, em 2017, o metalofármaco de Pd^{II} , padeliporfirina dipotássio (TOOKAD) teve seu uso aprovado pela EMA (European Medicines Agency) para terapia fotodinâmica em pacientes com câncer de próstata [58].

Figura 8: Estruturas de metalofármacos antineoplásicos em etapa de testes clínicos.



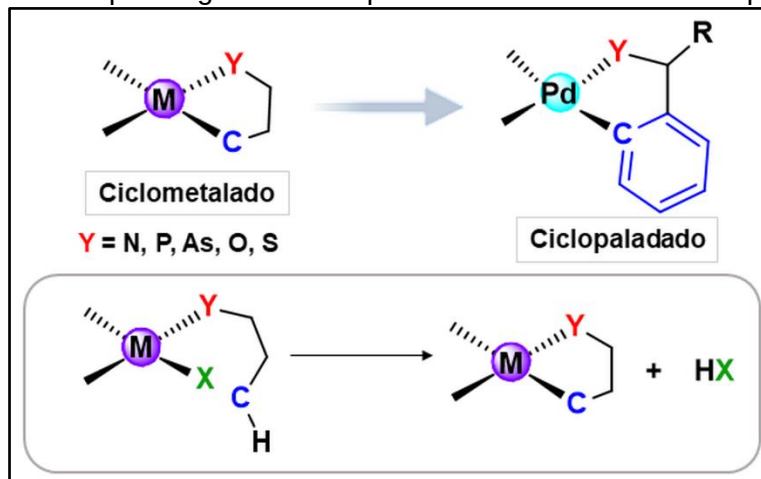
Fonte: Adaptado de Liang, 2017 [57] Englinger, 2019[39] The U.S. Food and Drug Administration 2020[58].

2. Referencial Teórico

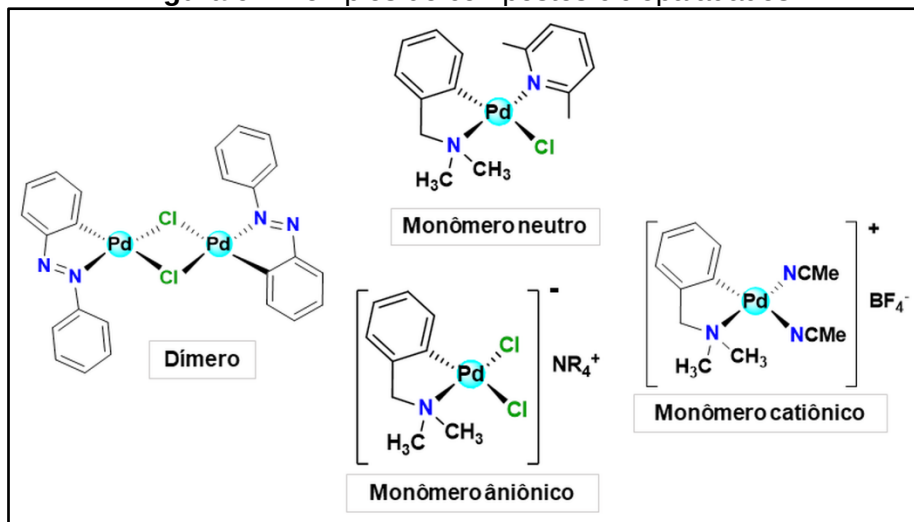
2.1 Ciclopaladados: definição, estrutura e atividade antitumoral

Os Ciclopaladados são espécies de Pd^{II} que pertencem a classe de compostos ciclometalados, os quais são assim denominados por serem constituídos essencialmente por uma ou mais unidades cíclicas. Esses anéis metalados são formados por duas ligações entre o núcleo metálico; uma ligação coordenada com um átomo doador (Grupo 5 ou Grupo 6) e uma ligação covalente com um átomo de carbono, caracterizando estes compostos como organometálicos [59,60](**Esquema 5**). Portanto, diferentes tipos de átomos de carbono (alifático, aromático, vinílico) podem ser utilizados na construção de ciclopaladados e, juntamente com a possibilidade da combinação de diferentes heteroátomos e ligantes lábeis, podem ser formadas espécies diméricas, monoméricas, neutras ou catiônicas (**Figura 9**)[60]. Assim, as diferentes possibilidades de configuração estrutural desses compostos permitem a modulação destas estruturas conforme a propriedade e finalidade desejada.

A ligação C-Pd é formada a partir da ruptura intramolecular da ligação C-H no ligante quelato e pela troca do ligante lábil, comumente halogenado, na esfera de coordenação. Pela necessidade de ativação da ligação C-H, normalmente são empregados átomos de C-sp² de sistemas aromáticos aniônicos em posição *orto* ao substituinte que contém o heteroátomo (**Esquema 5**) [59].

Esquema 5: Esquema geral de compostos ciclometalados e ciclopaladados.

Fonte: Adaptado de Dehand, 1976 [59]

Figura 9: Exemplos de compostos ciclopaladados.

Fonte: Adaptado de Dupont, 2005[61] Dehand,1976[59] da Cunha, 2020[62].

Nesse sentido, anéis metalados de 5 e 6 membros apresentam-se como os mais estáveis, sendo que a maioria dos compostos ciclopaladados reportados na literatura são constituídos por anéis de 5 membros, com o nitrogênio como heteroátomo [60]. Sistemas deste tipo foram primeiramente apresentados nos anos de 1960, e desde então essas estruturas têm sido funcionalizadas com grupos aminas, iminas, oximas, azobenzenos, dentre outras, visando principalmente a aplicação destes compostos como precursores catalíticos organometálicos [60,63,64].

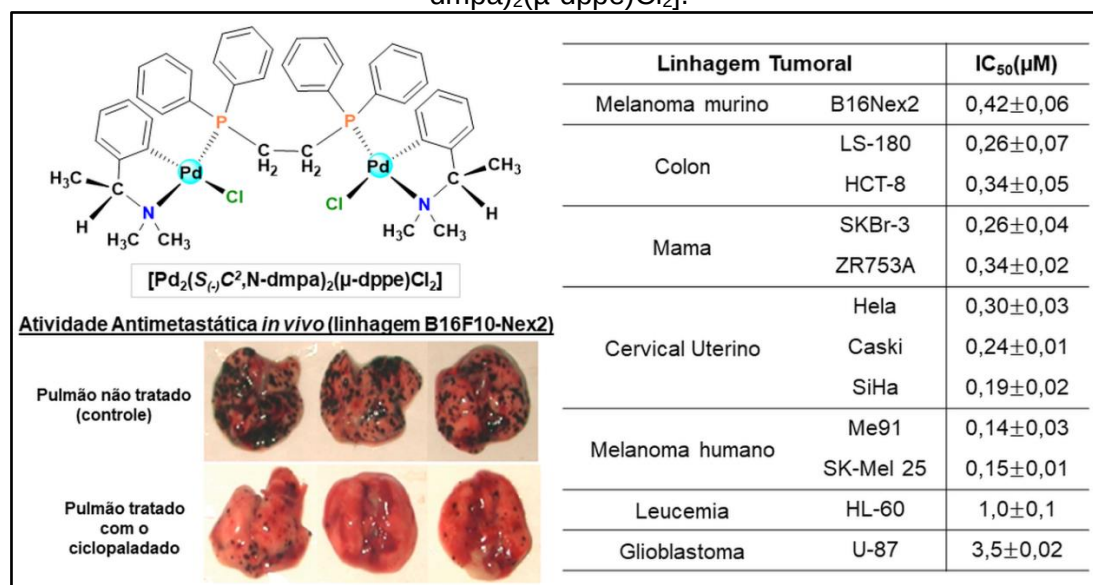
Dentre as propriedades físicas que estes compostos apresentam, destaca-se a alta estabilidade térmica. Essa característica mostra-se altamente relevante para a aplicação de ciclopaladados como precursores catalíticos em

reações de acoplamento C-C, C-heteroátomo do tipo Heck e Suzuki-Miyaura, tanto em escala laboratorial quanto industrial [63,65–68].

Apesar da expressiva aplicação de ciclopaladados na área de catálise, as propriedades físicas e estruturais destes compostos, como alta estabilidade e versatilidade sintética, tem despertado o interesse na aplicação destas espécies na área medicinal. Essa abordagem para ciclopaladados é relativamente nova, onde, em comparação a área de catálise, são encontrados um número menos expressivo de publicações. Dentre essas, destacam-se como os de maior recorrência os trabalhos onde a ação antitumoral destes compostos é investigada.

Nesse contexto, Rodrigues, *et al* reportou a obtenção e a ação antitumoral do ciclopaladado derivado do ligante ortometalado *N, N*-dimetil-1-fenetilamina (dmpa), com ligante auxiliar difosfínico dppe (1,2-etanobis(difenilfosfina)) (**Figura 10**)[69]. Este composto, dentre os derivados análogos testados no trabalho, mostrou-se como o mais promissor, exibindo ação antitumoral frente a células de melanoma murino. Nos ensaios *in vitro*, com uma concentração inferior a 1,25 μM , o ciclopaladado foi capaz de inibir 100 % do crescimento celular. Já os ensaios *in vivo* demonstraram que a administração subcutânea do composto em camundongos foi capaz de provocar a redução do tumor de células de melanoma B16F10-Nex2, aumentando a sobrevivência dos animais.

Figura 10: Estrutura e dados da ação antitumoral do ciclopaladado $[\text{Pd}_2(\text{S}_{(r)}\text{C}^2, \text{N-dmpa})_2(\mu\text{-dppe})\text{Cl}_2]$.



Fonte: Adaptado de Rodrigues, 2003[69] Serrano, 2011[70].

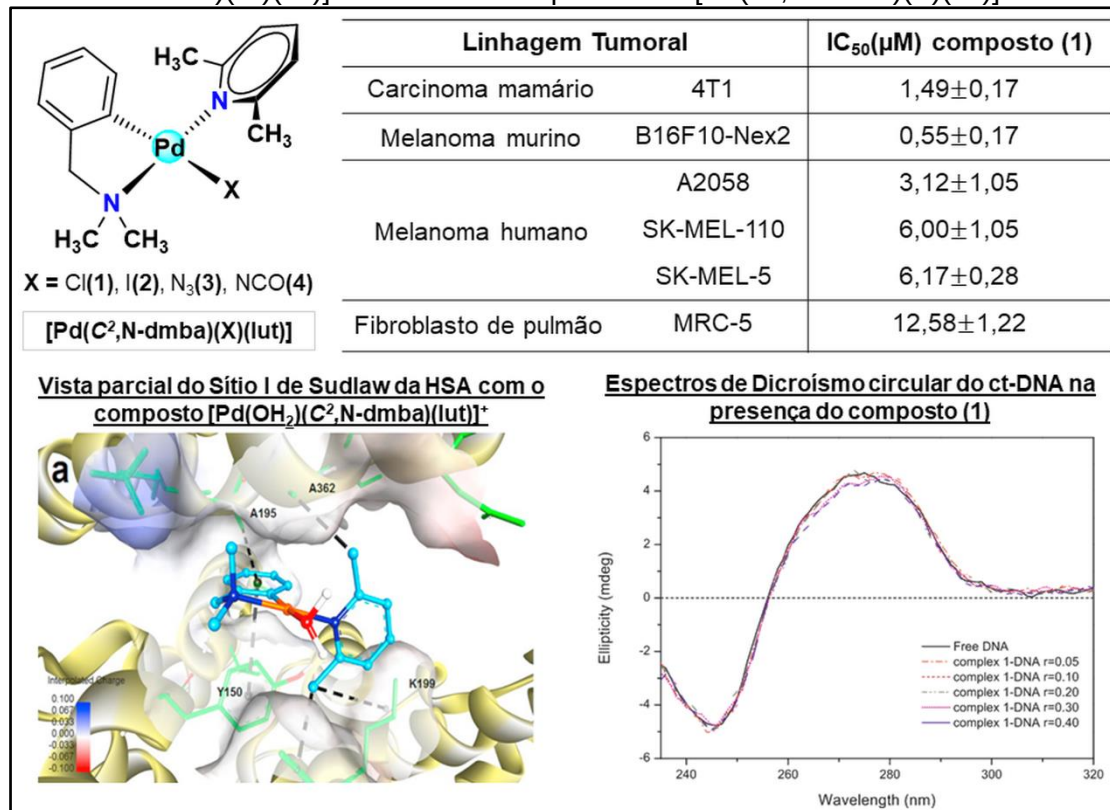
A avaliação da ação antitumoral *in vivo* para os ciclopaladados análogos neste trabalho destacou a importância da enantiosseletividade do ligante dmba ortometalado. O isômero com carbono assimétrico do ligante dmba em configuração “S” mostrou-se ativo, enquanto o com configuração “R” inativo. Como o carbono assimétrico compõem a porção metalocíclica, esse resultado demonstrou a importância deste fragmento estrutural para a atividade antitumoral de ciclopaladados [69].

Ainda neste trabalho foram estudados os possíveis mecanismos de ação associados a atividade do ciclopaladado, a partir de ensaios de apoptose e de interação com o DNA-plasmodial. Constatou-se que a presença do composto afetava rapidamente as células tumorais de melanoma, inibindo o metabolismo celular e levando a célula a mecanismos apoptose independentes de caspase. Complementando estes resultados, Serrano, *et al* elucidou o mecanismo de ação antitumoral do ciclopaladado frente as células de melanoma murino [70]. Com os ensaios de mensuração do potencial de membrana mitocondrial, constatou-se que o ciclopaladado apresenta a habilidade de interagir com grupos tiol das proteínas que compõem a membrana mitocondrial, ativando vias apoptóticas intrínsecas. Os resultados apresentados por Rodrigues, *et al* e Serrano, *et al* demonstram que o ciclopaladado pode atuar como um efetivo quimioterápico contra tumores murinos primários e em tumores humanos metastáticos, incluindo células resistentes a cisplatina [69,70].

Utilizando o ligante dmba ortometalado (*N,N*-dimetilbenzilamina), similar ao ligante dmpa, Cunha, *et al* reportou a síntese, caracterização e estudo da ação antitumoral de uma série de compostos ciclopaladados derivados de 2,6-lutidina com modificações no ligante lábil em posição *trans* a ligação C_{sp2}-Pd (**Figura 11**)[62]. A atividade antiproliferativa *in vitro* dos compostos foi testada frente a células tumorais murinas 4T1 (carcinoma mamário), B16F10-Nex2 (melanoma), humanas A2058, SKMEL-110 e SK-MEL-5 (melanomas) e uma linhagem de fibroblastos MRC-5. Os compostos da série apresentaram-se 10 a 100 vezes mais ativos do que o metalofármaco padrão Cisplatina, com valores de IC₅₀ inferiores a 10 µM para as 5 linhagens tumorais avaliadas. Não foram observadas variações significativas nos valores de concentração inibitória

mínima com as modificações do ligante aniônico no arcabouço molecular, podendo indicar que, para estes sistemas, o ligante ortometalado juntamente ao ligante auxiliar podem ser os responsáveis pela ação antiproliferativa.

Figura 11: Estrutura e dados da ação antitumoral do composto $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-dmba})(\text{Cl})(\text{lut})]$ da série de ciclopaladados $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-dmba})(\text{X})(\text{lut})]$.



Fonte: Adaptado de da Cunha, 2020 [62].

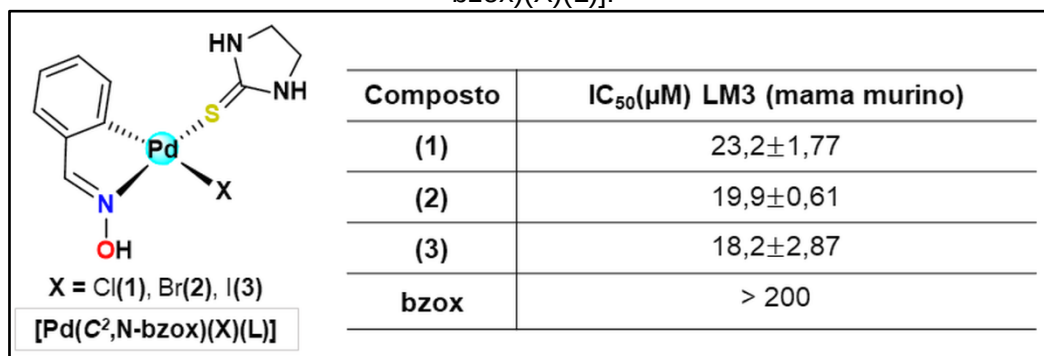
Ainda neste trabalho foi investigada a indução de apoptose na linhagem tumoral SK-MEL-5, ocasionada pelos monômeros. Por este estudo, foi observada uma diminuição da viabilidade celular por apoptose tardia e necrose, uma vez que os resultados demonstraram a indução de danos à mitocôndria pela diminuição do potencial transmembrana em presença dos compostos no período de 24 h. Assim como o exposto por Serrano, *et al*, os resultados de Cunha, *et al* demonstram a tendência de compostos ciclopaladados em causar danos a membrana mitocondrial com a indução de apoptose.

Adicionalmente, o monômero $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-dmba})(\text{Cl})(\text{Lut})]$ foi selecionado como representativo da série para estudos de interação com biomoléculas, HSA, ct-DNA e catepsinas B e L. A magnitude do valor da constante de ligação K_b obtido (10^3) demonstrou forte interação do composto com a HSA, podendo

indicar que compostos ciclopaladados deste tipo podem ser transportados pela proteína através do plasma sanguíneo. Além disso, ensaios de competição com a sonda Warfarina, complementados por cálculos de docking molecular, indicaram o subdomínio II no sítio de Sudlow's I como possível sítio de interação monômero-HSA (*vide Figura 11*). A avaliação da interação do composto com ct-DNA por dicroísmo circular indicou interações não-intercalativas e os compostos não foram capazes de inibir as catepsinas B e L, indicando que não houve correlação com a ação inibitória apresentada pelos compostos [62].

Além de ciclopaladados derivados de aminas ortometaladas, destacam-se trabalhos com ligantes ortometalados do tipo oximas. Estes ligantes N-doadores são classificados como iminas, que apresentam como fragmento principal o grupo C=N-OH [63,71,72]. Por essa característica estrutural, tornam insaturado o anel metalociclo formado, diferenciando este fragmento estrutural do ciclopaladado em comparação aos compostos derivados de aminas ortometaladas [63,73]. A ação antitumoral de ciclopaladados deste tipo tem sido relativamente pouco investigada, podendo ser pontuados poucos trabalhos neste sentido. Dentre estes, destaca-se o trabalho de Thomazella, *et al*, onde foi apresentada a síntese, caracterização e estudo da ação antitumoral de ciclopaladados monoméricos derivados de benzaldeídooxima (bzox) ortometalada, etilenotiouréia e haletos (Cl, Br, I) como ligantes auxiliar e lábil, respectivamente (**Figura 12**) [74]. Os compostos apresentaram ação inibitória frente a linhagem tumoral LM3 (mama murino) similar a cisplatina, com valores de IC₅₀ que variaram de 15,3 a 25,0 µM. Igualmente ao reportado por Cunha, *et al*, alterações no ligante lábil no núcleo coordenante dos monômeros não influenciou significativamente na atividade inibitória apresentada pelos compostos da série, destacando a relevância do ligante ortometalado e do ligante auxiliar na composição da espécie ativa do ciclopaladado formado.

Figura 12: Estrutura e dados da ação antitumoral da série de ciclopaladados $[Pd(C^2,N\text{-bzox})(X)(L)]$.



Fonte: Adaptado de Thomazella, 2018[74].

Variando os ligantes auxiliares da classe das tiouréias, Souza, de R. F. F., *et al* reportou a síntese, caracterização e o perfil de atividade antiproliferativa de uma série de ciclopaladados monoméricos contendo acetofenona oxima ortometalada (**Figura 13**) [36]. Os compostos foram testados frente a 2 linhagens tumorais murinas (4T1, B16F10-Nex2) e 5 linhagens tumorais de melanoma humano (A2058, SK-MEL-110, SK-MEL-05, Cal27 e HepG2). Para as 7 linhagens tumorais avaliadas foram observados padrões distintos de inibição do crescimento celular, onde os monômeros contendo tiouréias/tioamidas substituídas com grupos aromáticos, como ligante auxiliar, apresentaram-se mais ativas. A partir dessa informação, pode-se destacar a importância da constituição do ligante auxiliar para a atividade de compostos ciclopaladados e ainda que porções aromáticas podem representar grupos farmacofóricos nestes sistemas. Neste sentido, o ciclopaladado contendo benziltiouréia apresentou-se mais ativo em comparação a cisplatina para todas as linhagens tumorais testadas [36].

Figura 13: Estrutura e dados da ação antitumoral da série de ciclopalladados $[Pd(C^2,N\text{-afox})(Cl)(L)]$.

$[Pd(C^2,N\text{-afox})(Cl)(L)]$

Composto	R ₁	R ₂
(1)	H	NH ₂
(2)	CH ₃	NH ₂
(3)	CH ₃	NHCH ₃
(4)	C ₆ H ₅	NH ₂
(5)	C ₆ H ₅	NHC ₆ H ₅
(6)	H	CH ₃
(7)	H	C ₆ H ₅

Linhagem Tumoral		IC ₅₀ (μM)		
		(4)	(5)	(7)
Carcinoma mamário	4T1	38,68±3,57	45,87±0,74	34,70±15,78
Melanoma murino	B16F10-Nex2	33,07±3,77	50,35±5,02	25,92±3,52
Melanoma humano	A2058	89,72±15,82	82,23±2,46	65,05±7,34
	SK-MEL-110	60,54±1,88	61,18±3,87	51,05±4,14
	SK-MEL-5	50,05±7,47	59,20±2,13	49,57±2,97
Carcinoma adenoescamoso oral	Cal27	55,06±0,47	47,79±2,57	69,45±3,57
Fígado	HepG2	27,72±1,00	15,92±3,84	33,32±5,88

Fonte: Adaptado de Souza, 2019[36].

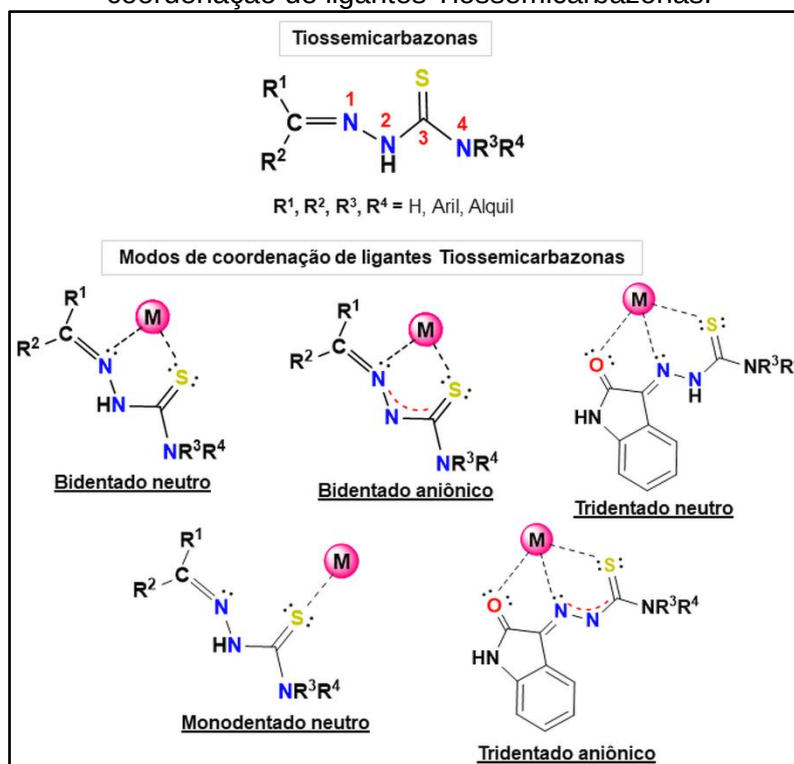
Os trabalhos citados demonstram as potencialidades para a aplicação medicinal de compostos ciclopalladados, em especial na busca por substâncias que possam atuar como metalofármacos antitumorais. Não foram encontrados, até o presente momento, trabalhos que reportem o perfil antitumoral de ciclopalladados monoméricos contendo ligantes tetralonaoxima ortometalada e fosfinas como ligantes auxiliares, sendo desta forma o presente trabalho pioneiro para estes sistemas.

2.2 Tiossemicarbazonas bioativas

Tiossemicarbazonas são compostos bases de Schiff pertencentes a classe das iminas, caracterizados pelo núcleo estrutural “C=N-NH-CS-N”, conforme é apresentado no **Esquema 6**. Estas moléculas são comumente obtidas pela combinação de um aldeído ou cetona com uma tiossemicarbazida [75,76]. Pela diversidade de substâncias carboniladas que podem ser empregadas e possibilidades de substituintes no N(4) da tiossemicarbazida, as tiossemicarbazonas são consideradas altamente versáteis e com grande

potencialidade quando se visa a obtenção de compostos bioativos, em função da viabilidade de modulação de ações específicas pelo planejamento estrutural [77–83]. Igualmente, as características químico/estruturais destes compostos tem impulsionado a sua utilização como ligantes na construção de complexos metálicos [84–90]. A disposição de seus átomos propicia grande deslocalização eletrônica, favorecendo sua atuação como ligante quelato bidentado, com a coordenação do nitrogênio azometínico e do átomo de enxofre do grupo C=S, tridentado, quando a porção do aldeído ou cetona apresenta sítio coordenante ou de forma monodentada (*vide Esquema 6*). Por sua propriedade quelante, ligantes tiossemicarbazonas de forma geral originam complexos estáveis com diversos núcleos metálicos, podendo coordenar-se na forma aniônica ou neutra [75,76].

Esquema 6: Estrutura geral numerada e representação dos possíveis modos de coordenação de ligantes Tiossemicarbazonas.

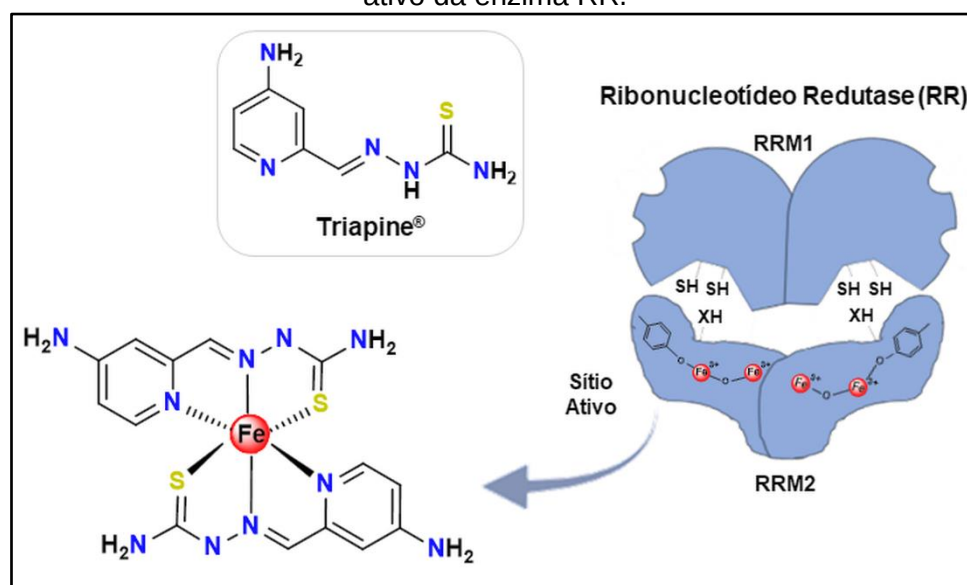


Fonte: Adaptado de Tenório, 2005[75] e Casas, 2000[76].

Deste modo, uma diversidade de ligantes tiossemicarbazonas e seus complexos derivados tem sido extensivamente estudados, principalmente com o enfoque na obtenção de substâncias com propriedades farmacológicas. Às

tiossemicarbazonas tem sido atribuídas atividades antibacteriana, antiviral, antiprotozoária, antitumoral, dentre outras [79–82,86,91]. Sua ação antitumoral tem sido conferida tanto a sua atuação inibitória frente a enzima ribonucleotídeo redutase (RR), envolvida na replicação e reparo do DNA, como à sua capacidade em quelar cátions metálicos que possam funcionar como cofatores em enzimas alvo na terapia do câncer [78,92–95]. Um exemplo de substância que atua neste sentido é o composto 3-aminopiridina-2-carboxaldeído-tiossemicarbazona (Triapine®), pertencente a série das α -(N)-heterocíclo-tiossemicarbazonas [96]. Atualmente foram iniciados estudos clínicos de fase III com este fármaco para terapias combinadas com cisplatina e radioterapia em pacientes com câncer cervical ou vaginal. Estudos voltados a investigação quanto ao mecanismo de ação da Triapine® sugerem a formação de um complexo entre o ligante tiossemicarbazona e o núcleo de ferro presente no sítio catalítico da enzima RR, levando a redução do íon metálico Fe^{3+} para Fe^{2+} , inativando a enzima (**Figura 14**) [78,92,97].

Figura 14: Estrutura do fármaco Triapine® e representação de sua interação no sítio ativo da enzima RR.

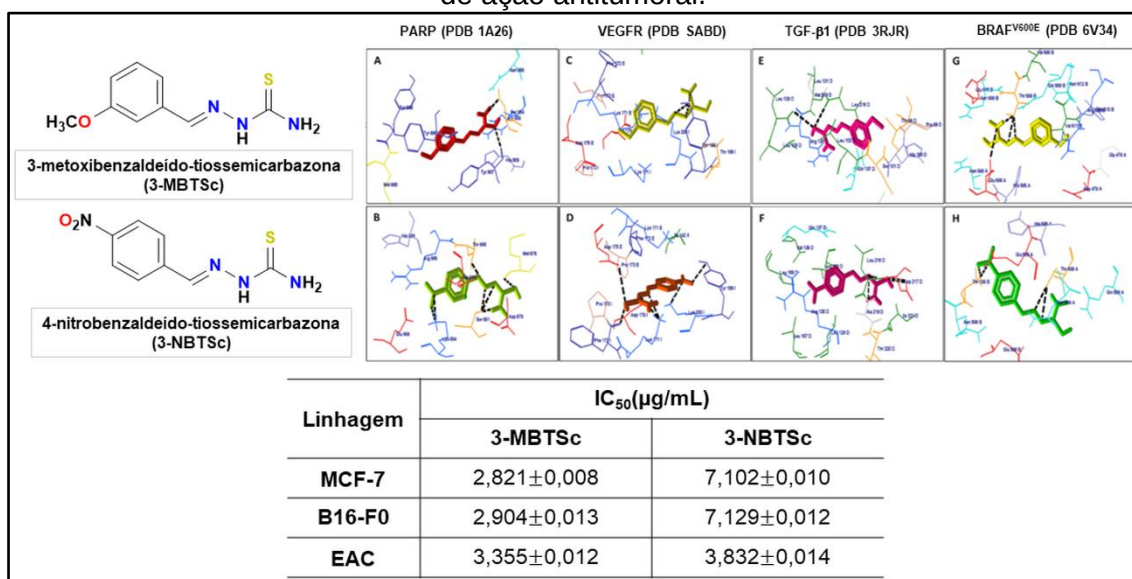


Fonte: Adaptado de Plamthottam, 2019 [92].

A ação promissora apresentada pelo composto Triapine® tem impulsionado a investigação da ação antitumoral de compostos semelhantes da classe das α -(N)-heterocíclo-tiossemicarbazonas, bem como dos derivados benziltiossemicarbazonas. Neste sentido, Sibuh, *et al* apresentaram a síntese,

caracterização e investigação da ação antitumoral de dois compostos benziltiossemicarbazonas: 3-metoxibenzil-tiossemicarbazona (3-MBTSc) e 4-nitrobenzaldeído-tiossemicarbazona (4-NBTSc) (**Figura 15**)[98]. Foi avaliada a ação antiproliferativa apresentada pelas duas substâncias frente as linhagens tumorais MCF-7 (mama), B16-F0 (melanoma murino) e EAC (carcinoma de Ehrlich), onde ambos os compostos apresentaram níveis de inibição comparáveis ao fármaco padrão Doxorrubicina. O derivado tiossemicarbazona com substituinte metóxi apresentou menores valores de IC₅₀ frente as linhagens tumorais testadas (IC₅₀ variando de $2,821 \pm 0,008 \mu\text{g/mL}$ a $3,355 \pm 0,012 \mu\text{g/mL}$) e igualmente baixos níveis de toxicidade (abaixo de 20 %), frente a células normais de mama (MCF-10A). Além disso, estudos de docking molecular com proteínas alvo expressas em linhagens tumorais de mama e pulmão (PARP [PDB: 1A26]; VEGFR [PDB: 5ABD]; TGF- β 1 [PDB: 3RJR]; BRAF^{V600E} [PDB: 6V34]) demonstraram o potencial dos derivados tiossemicarbazonas em atuarem como fármacos antitumorais multialvo [98].

Figura 15: Estrutura dos compostos 3-MBTSc e 4-NBTSc e representação de dados de ação antitumoral.

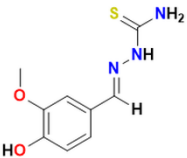
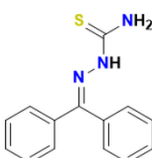
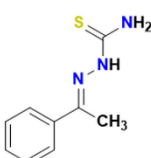


Fonte: Adaptado de Sibuh, 2021 [98].

De forma semelhante, Shahriar, *et al* reportou a ação antitumoral *in vivo* frente a tumores de carcinoma de Ehrlich de 3 derivados bases de Schiff: vanilina-tiossemicarbazona, benzofenona-tiossemicarbazona e acetofenona-tiossemicarbazona (**Figura 16**) [99]. O tratamento com os compostos resultou

em uma diminuição significativa no crescimento tumoral nos animais. A administração de 7,5 mg/Kg do composto vanilina-tiossemicarbazona ocasionou uma inibição em 88,04 % do crescimento tumoral e um aumento na sobrevivência dos animais de 86,67 %.

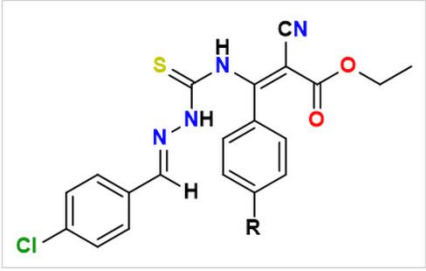
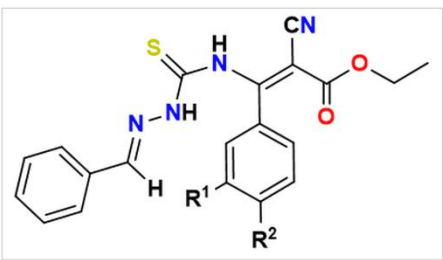
Figura 16: Estrutura e dados da ação antitumoral dos compostos tiossemicarbazonas apresentados por Shahriar, S. M. S.; *et al.*

			
	Vanilina-tiossemicarbazona	benzofenona-tiossemicarbazona	acetofenona-tiossemicarbazona
Dose	7,5 mg/Kg	2 mg/Kg	2 mg/Kg
Inibição do crescimento celular <i>in vivo</i>	88,4 %	88,97 %	83,86 %
Aumento da sobrevivência dos animais	86,67 %	88,09 %	80,95 %

Fonte: Adaptado de Shahriar, S. M. S Ali, S. M. M Jesmin, M Islam, M. K Mondal, 2014[99].

Recentemente, Mohammed, *et al* e Mourad, *et al* apresentaram estudos da ação antitumoral de diferentes benziltiossemicarbazonas frente as linhagens tumorais MCF-7 (mama) e A549 (pulmão), associando a ação dos compostos a interação com biomoléculas alvo (**Figura 17**) [100,101]. Mohammed, *et al* demonstrou, a partir de resultados de inibição do crescimento celular *in vitro*, que a linhagem tumoral MCF-7 mostrou-se mais sensível aos derivados tiossemicarbazonas com substituintes metoxila e cetona, em comparação a linhagem tumoral A549. Estes derivados tiossemicarbazonas apresentaram os menores valores de IC₅₀ dentre os compostos sintetizados, sendo aproximadamente 8 vezes mais ativos para a linhagem MCF-7 em comparação ao fármaco padrão testado 5-fluorouracil (5-FU). Ainda, cálculos de docking molecular no sítio ativo da topoisomerase II β demonstrou que o composto com substituinte cetona pode promover interações com resíduos específicos, podendo levar a inibição da enzima. É sugerido, dessa forma, que esse comportamento pode estar associado ao mecanismo de ação do composto [100].

Figura 17: Estrutura geral e dados de ação inibitória para os derivados tiossemicarbazonas apresentados por **(a)** Mohammed, F. Z.; *et al* e **(b)** Mourad, A. A. E.; *et al*.

(a)			(b)		
					
Composto		IC ₅₀ (μM)		Composto	
		MCF-7	A549		
5a	R = H	3,72 ± 0,23	22,52 ± 1,51	4b	R ¹ = H; R ² = OCH ₃
6	R = OCH ₃	4,85 ± 0,29	18,42 ± 0,58	4c	R ¹ = OCH ₃ ; R ² = OH
7	R = OCOCH ₃	3,69 ± 0,22	29,41 ± 2,33	4d	R ¹ = H; R ² = N(CH ₃) ₂
5-FU		31,20 ± 1,65	7,09 ± 0,27		

Fonte: Adaptado de Mohammed, 2021 [100] e Mourad, 2021[101].

Da mesma forma, Mourad, *et al* investigou a ação inibitória de benziltiossemicarbazonas frente as linhagens MCF-7 e A549. Novamente, os resultados de inibição *in vitro* demonstraram que o composto da série com substituinte metoxila apresentou os menores valores de IC₅₀ (MCF-7 [IC₅₀ 8,42 μM]; A549 [IC₅₀ 6,47 μM]) (*vide* **Figura 17**). Adicionalmente, estudos de inibição enzimática demonstraram que o mecanismo de ação dos derivados tiossemicarbazonas testados podem estar associados a inibição das enzimas β-tubulina e Topoisomerase IIβ [101].

Os estudos mencionados acerca da ação antitumoral de compostos tiossemicarbazonas demonstram a potencialidade desta classe de compostos. As possibilidades de modulação estrutural com a inserção de grupos funcionais específicos criam possibilidades de interação destes compostos com diferentes biomoléculas alvo na terapia do câncer, além de poderem aprimorar propriedades físico-químicas ligadas a farmacocinética e farmacodinâmica. Ainda se destaca o fundamental papel das propriedades quelantes e da formação de complexos metálicos que, conforme demonstrado, estão intimamente relacionadas aos mecanismos de ação biológica de compostos tiossemicarbazonas.

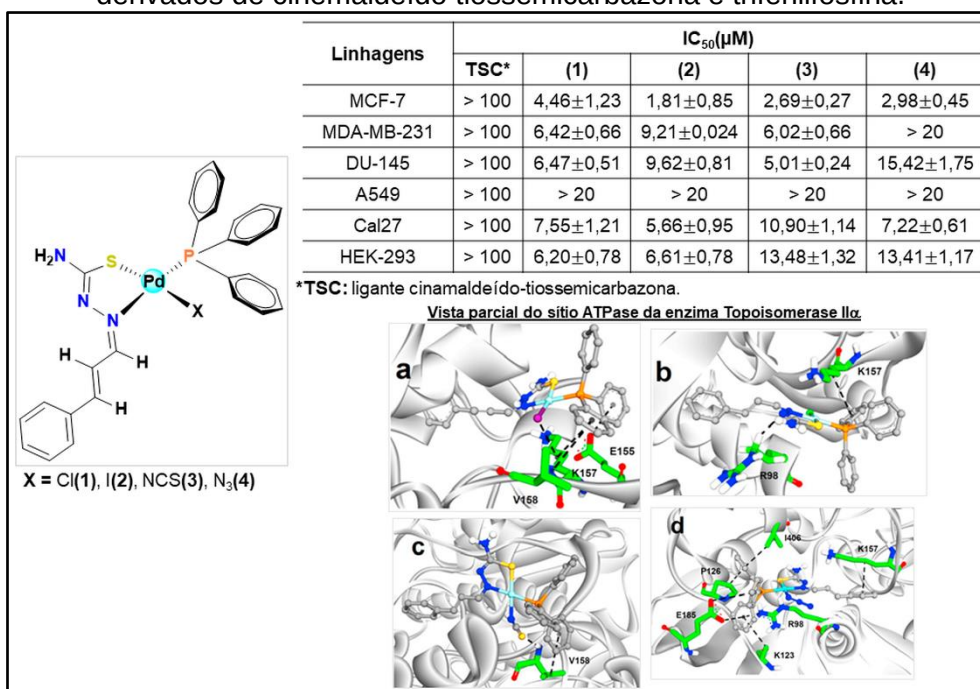
2.3 Complexos de Pd^{II} derivados de tiossemicarbazonas com ação antitumoral

Por apresentar essencialmente um núcleo coordenante de característica mole (átomo de enxofre do grupo tiona) e um de característica intermediária (nitrogênio azometínico), ligantes tiossemicarbazonas podem formar complexos com diversos íons metálicos, como Cu^{II}, Ni^{II}, Pt^{II}, Zn^{II}, Co^{II}, Ag^I, Pd^{II}, dentre outros. Neste âmbito, as propriedades químicas e biológicas de complexos metálicos contendo ligantes tiossemicarbazonas tem sido amplamente reportado na literatura em função das excelentes propriedades quelantes desta classe de ligantes, sendo possível a modulação estrutural destes compostos para respostas biológicas específicas [54,84,85,88,89,102–105].

Pela característica de ser um ácido mole, o íon Pd^{II} pode formar complexos quadráticos estáveis com ligantes tiossemicarbazonas. As propriedades biológicas de complexos deste tipo vêm sendo investigadas, em especial a atuação destes compostos como potenciais agentes antitumorais [106–111]. Neste contexto, destacam-se os sistemas contendo ligantes derivados de tiossemicarbazonas combinados a ligantes fosfínicos, como auxiliares, e ligantes lábeis. Dentre os trabalhos reportados neste sentido, pode ser citado o estudo de Rocha, *et al* onde foi apresentada a síntese e avaliação da ação antitumoral de 4 novos complexos de Pd^{II} contendo os ligantes cinemaldeído-tiossemicarbazona, trifenilfosfina e variações de ligantes aniônicos (Cl, I, SCN e N₃) (**Figura 18**) [112]. A avaliação da capacidade antiproliferativa dos complexos frente a linhagens tumorais demonstrou que as células de câncer de mama (MDA-MB-231 e MCF-7) e próstata (DU145) foram mais sensíveis aos complexos, em comparação as linhagens tumorais de pulmão (A549) e língua (Cal27), apresentando-se mais ativos que o fármaco padrão cisplatina. Salienta-se a inatividade apresentada pelo ligante cinemaldeído-tiossemicarbazona livre frente as linhagens tumorais testadas, podendo demonstrar que a atividade antiproliferativa observada para os complexos se deve ao sinergismo estrutural na construção da esfera de coordenação. Ainda, pode-se verificar, pelos dados de IC₅₀ obtidos, que as alterações propostas no ligante lábil não ocasionaram alterações significativas na ação antiproliferativa exibida pelos complexos.

Complementarmente, a ação inibitória dos compostos foi avaliada frente a enzima alvo Topoisomerase II α . Os resultados de inibição *in vitro* e *in silico* demonstraram a habilidade inibitória dos complexos frente a enzima, onde apresentaram valores de IC₅₀ [6,25 a 25 μ M] inferiores ao reportado para inibidores padrão [IC₅₀ etoposídeo 35 μ M]. Destaca-se ainda a menor ação antiproliferativa apresentada pelos complexos frente a linhagem de células normais de rim (HEK-293) [IC₅₀ 6,20 $\pm$ 0,83 a 13,48 $\pm$ 1,32] em comparação a cisplatina [IC₅₀ 2,42 $\pm$ 0,65]. Considerando que a nefrotoxicidade é um dos efeitos colaterais ocasionados pelo tratamento com cisplatina, este resultado demonstra que complexos de Pd^{II} contendo a combinação de ligantes tiossemicarbazona, fosfínico e ligante lábil podem apresentar menor toxicidade, representando um sistema antitumoral promissor [113].

Figura 18: Estrutura geral e dados da ação antitumoral dos complexos de Pd^{II} derivados de cinamaldeído tiossemicarbazona e trifenilfosfina.



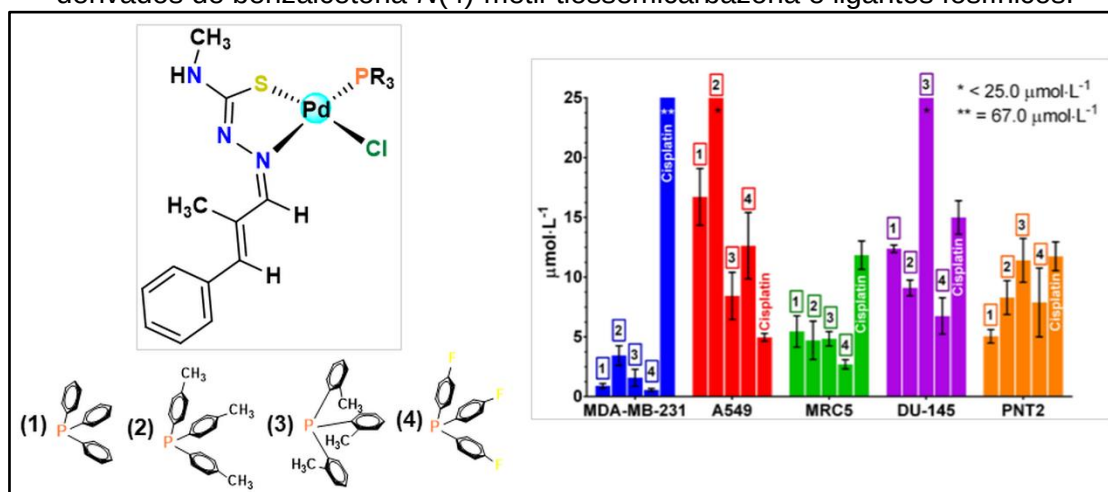
Fonte: Adaptado de Rocha, 2019 [112].

Em um estudo semelhante ao apresentado por Rocha, *et al*, Lima, *et al* reportou a síntese e avaliação da ação antitumoral de 4 complexos de Pd^{II} contendo ligantes benzalcetona-*N*(4)-metil-tiossemicarbazona, clorido e variações de ligantes fosfínicos (**Figura 19**) [113]. A ação antiproliferativa dos compostos foi avaliada frente as linhagens tumorais MDA-MB-231, MCF-7

(mama), DU-145 (próstata), A549 (pulmão) e frente a células não tumorais de pulmão (MRC-5) e próstata (PNT-2). Os complexos foram mais ativos frente as linhagens tumorais de mama avaliadas, apresentando-se 20 vezes mais eficientes do que a cisplatina. Ainda, o ligante tiossemicarbazona mostrou-se inativo frente as linhagens tumorais testadas, destacando mais uma vez que a ação antiproliferativa exibida pelos complexos está relacionada a composição da esfera de coordenação.

A variação de substituintes no sistema aromático dos ligantes fosfínicos influenciou na atividade dos compostos frente as linhagens de mama, onde o complexo contendo trifenilfosfina e tris(4-fluorofenil)fosfina apresentaram os menores valores de IC_{50} [$< 5 \mu M$]. Adicionalmente, a ação inibitória dos complexos frente a enzima alvo Topoisomerase $II\alpha$ foi avaliada e, como nos resultados de atividade inibitória, os compostos contendo trifenilfosfina e tris(4-fluorofenil)fosfina apresentaram o menor valor de concentração inibitória ($12,5 \mu M$). Estes dados inferem uma associação entre os atividade antiproliferativa e interação com o alvo farmacológico, demonstrando que a presença de substituintes que retiram densidade eletrônica do sistema aromático em ligantes fosfínicos, como no caso do ligante tris(4-fluorofenil)fosfina, podem potencializar a ação antiproliferativa neste tipo de complexo. Adicionalmente foi estudada a interação dos complexos com o DNA por eletroforese, em que se pode sugerir a ocorrência de interações de natureza não-covalente [113].

Figura 19: Estrutura geral e dados de atividade antiproliferativa dos complexos de Pd^{II} derivados de benzalcetona-*N*(4)-metil-tiossemicarbazona e ligantes fosfínicos.

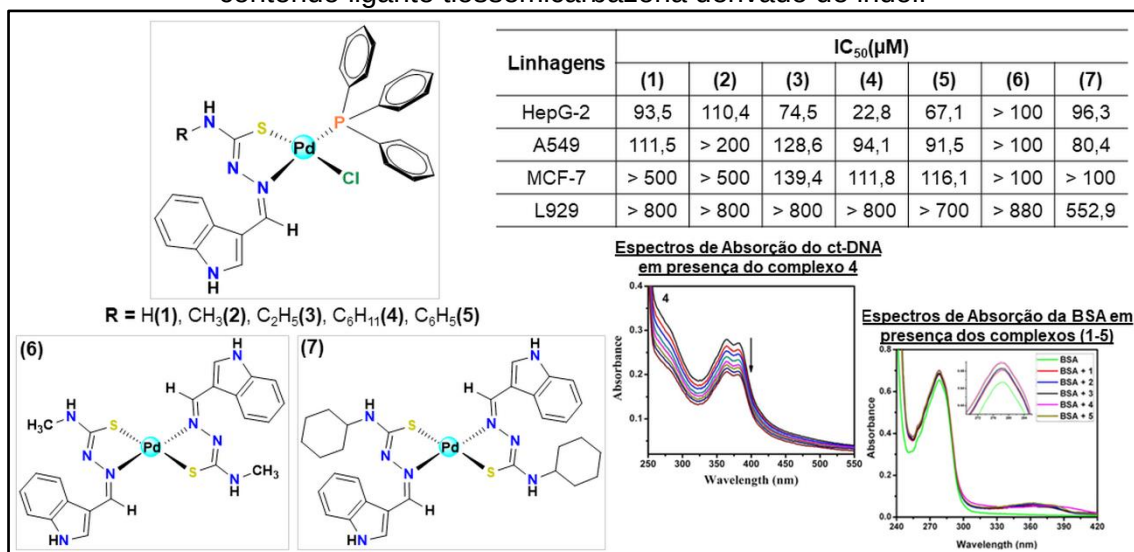


Fonte: Adaptado de Lima, 2020 [113].

Haribabu, *et al*/ apresentou um estudo comparativo entre o sistema contendo ligantes tiossemicarbazona, clorido e trifenilfosfina com complexos de Pd^{II} bisquelatos derivados de tiossemicarbazonas. No referido trabalho foi relatada a síntese, caracterização e avaliação do perfil antitumoral de 7 complexos de Pd^{II}: 5 contendo trifenilfosfina, ligante clorido e com variação dos substituintes na posição N(4) do ligante tiossemicarbazona derivado de indol; 2 complexos bisquelatos simétricos contendo os ligantes tiossemicarbazonas com substituição na posição N(4) pelos grupos metil e ciclohexil (**Figura 20**) [114]. A ação inibitória dos compostos foi avaliada frente as linhagens tumorais HepG-2 (fígado), A549 (pulmão), MCF-7 (mama) e uma linhagem não tumoral de fibroblasto de pulmão (MRC-5). A linhagem tumoral de fígado mostrou-se mais sensível aos complexos, apresentando valores de IC₅₀ que variaram de 10 a 200 µg/mL. Os resultados demonstraram que os complexos contendo a combinação de ligantes trifenilfosfina e tiossemicarbazonas mostraram-se mais ativos em comparação aos complexos bisquelatos. Esta condição demonstra que a presença do ligante fosfínico pode influenciar de forma positiva na ação de complexos de Pd^{II} contendo ligantes tiossemicarbazonas.

Complementarmente, foram realizados ensaios de interação dos complexos com as biomoléculas DNA e BSA. Os resultados demonstraram que os complexos interagem com o DNA por intercalação através de interações de natureza não-covalente. Já os ensaios de interação com a BSA demonstraram que os compostos podem vir a ser transportados pela proteína [114].

Figura 20: Estruturas gerais e dados da ação antitumoral dos complexos de Pd^{II} contendo ligante tiossemicarbazona derivado de indol.

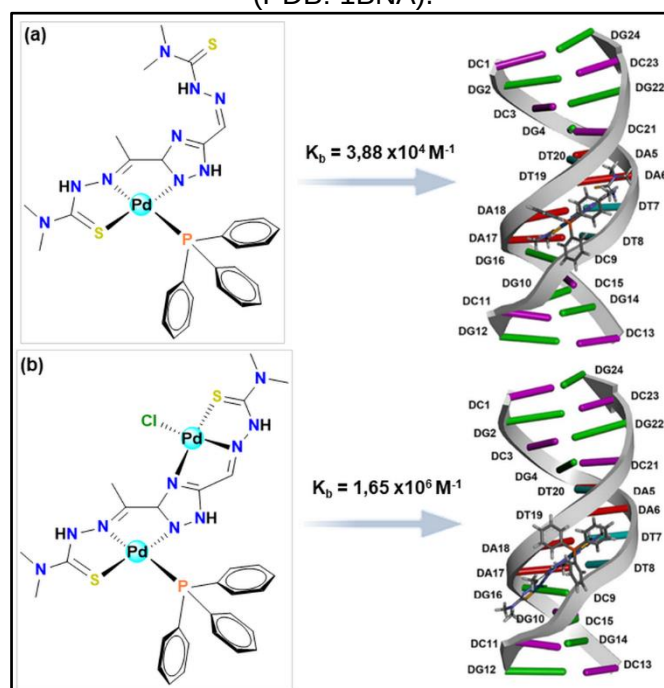


Fonte: Adaptado de Haribabu, 2018 [114].

Alguns trabalhos evidenciam que a presença de ligantes fosfínicos na esfera de coordenação de complexos de Pd^{II} podem propiciar a ocorrência de interações intermoleculares importantes para o reconhecimento molecular com biomoléculas alvo, como o DNA. Estudos publicados por Fuentes, *et al* e Haribabu, *et al* ilustram esse comportamento. Fuentes, L.; *et al* reportou a síntese, estudo estrutural e a interação com o DNA de 2 complexos de Pd^{II} mono e dinucleares contendo o ligante 3,5-diacetil-1,2,4-triazol bis(*N*⁴, *N*⁴-dimetiltiossemicarbazona) e trifenilfosfina (**Figura 21**) [115]. A interação dos complexos com o DNA foi avaliada por UV-vis, eletroforese e docking molecular. Os valores de constante de ligação encontrados (*K_b*) ficaram próximos ao reportado para moléculas que interagem na região do sulco menor do DNA e, de encontro a esse resultado, ensaios de eletroforese demonstraram a existência de interações de natureza não-covalente pela inalteração na mobilidade eletroforética. Complementarmente, cálculos de dinâmica molecular e docking na região do sulco menor do DNA indicaram que os complexos interagem com a cadeia de bases nitrogenadas e grupos fosfato da biomolécula por interações eletrostáticas, após serem direcionados a região específica por forças de van der Waals e interações hidrofóbicas.

Figura 21: Estruturas dos complexos mono (a) e dinuclear (b) de Pd^{II} contendo o ligante 3,5-diacetil-1,2,4-triazol bis(*N*⁴, *N*⁴-dimetiltiossemicarbazona), trifenilfosfina e

poses mais estáveis obtidas por docking molecular na região do sulco menor do DNA (PDB: 1BNA).



Fonte: Adaptado de Fuentes, 2020[115].

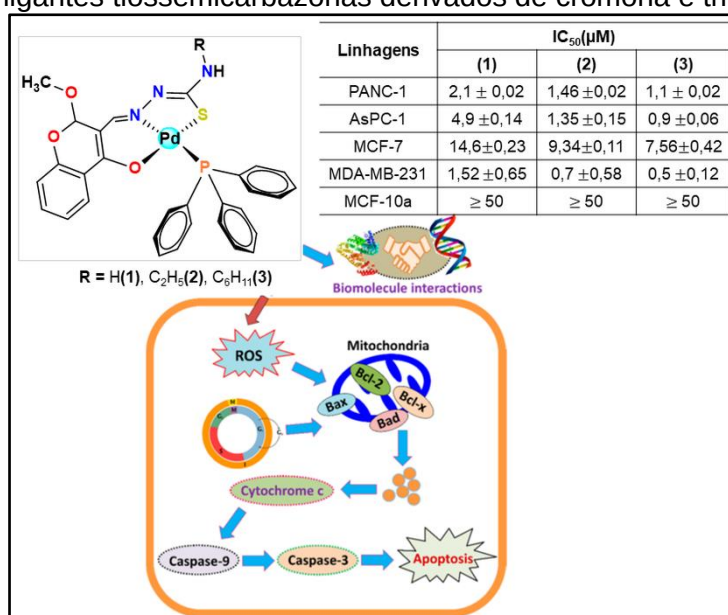
O trabalho de Haribabu, *et al* apresentou a síntese, caracterização e investigação do perfil antitumoral de 3 complexos de Pd^{II} contendo ligantes tiossemicarbazonas tridentados O,N,S-doador derivados de cromona e trifenilfosfina (**Figura 22**) [116]. Ensaios de interação com o DNA por UV-vis, viscosidade e fluorescência evidenciaram que os complexos interagem de forma intercalativa e, complementarmente, cálculos de docking molecular demonstraram que esta forma de interação pode ser promovida por ligações de hidrogênio, principalmente com grupos oxigenados e nitrogenados da estrutura do DNA. Igualmente, estudos de docking molecular com a proteína BSA evidenciaram a possibilidade da existência de interações com a porção do ligante trifenilfosfina, demonstrando a importância deste fragmento estrutural no reconhecimento molecular dos complexos.

Ainda foi avaliada a ação antiproliferativa dos compostos frente as linhagens tumorais de pâncreas (PANC-1, AsPC-1), mama (MCF-7, MDA-MB-231) e uma linhagem não-tumoral de mama (MCF-10a). Os melhores resultados de inibição foram encontrados para a linhagem MDA-MB-231, onde os valores de IC₅₀ variaram de $0,5 \pm 0,12$ a $1,52 \pm 0,65 \mu\text{M}$. Colaborando com este resultado,

os complexos mostraram baixa toxicidade frente a linhagem normal de mesmo tecido (MCF-10a [$IC_{50} \geq 50 \mu M$]).

Com os resultados obtidos em conjunto a ensaios de morte celular frente a linhagem MDA-MB-231, foi proposto um mecanismo de ação antitumoral para os complexos. Determinou-se que os compostos induzem a morte dessas células por apoptose e o referido mecanismo proposto para isso envolve a geração de espécies reativas de oxigênio e intervenção no funcionamento mitocondrial [116].

Figura 22: Estrutura geral e dados da ação antitumoral dos complexos de Pd^{II} contendo ligantes tiossemicarbazonas derivados de cromona e trifenilfosfina.



Fonte: Adaptado de Haribabu, 2020 [116].

Os trabalhos destacados demonstram que complexos de Pd^{II} contendo a combinação de ligantes tiossemicarbazonas e fosfínicos representam potenciais sistemas candidatos a agentes antitumorais. Ainda os estudos reportados na literatura demonstram a importância do planejamento estrutural de complexos deste tipo, onde a incorporação de fragmentos estruturais específicos pode desempenhar um papel chave tanto na ação antiproliferativa apresentada pelos compostos, quanto na interação destes com biomoléculas alvo na terapia do câncer. Destaca-se que não foram encontrados até o momento artigos que reportem o estudo de complexos de Pd^{II} contendo a combinação de ligantes

tiossemicarbazona derivado de vanilina funcionalizada, fosfínicos e clorido, tornando o estudo dos compostos apresentados no presente trabalho inédito.

3. Hipótese

Apesar de a cisplatina e seus análogos representarem os metalofármacos mais utilizados no tratamento de neoplasias, a resistência intrínseca e adquirida, a baixa seletividade e os efeitos colaterais severos ocasionados em decorrência disso representam limitações importantes ao uso quimioterápico dessas substâncias. Visando transpor esta problemática na busca de substâncias que possam funcionar como fármacos antitumorais mais eficientes e menos tóxicos, complexos metálicos de Pd^{II} vem sendo investigados. O paládio pertence a mesma família da platina na tabela periódica, estando um período acima deste elemento. Esta condição faz com que o paládio compartilhe similaridades importantes com a platina, como a configuração d^8 , estado de oxidação mais estável +2 e raio iônico próximo (raio Pd^{II}: 0,64 Å; raio Pt^{II}: 0,74) [117–120]. Estas características eletrônico estruturais tornam os complexos de Pd^{II} semelhantes aos de Pt^{II}, como a formação de estruturas de geometria quadrática plana [121].

Apesar das muitas similaridades, complexos de Pd^{II} apresentam maior tendência a hidrólise e diferença na velocidade de troca de ligantes na esfera de coordenação, sendo esta 10^5 vezes maior em comparação aos análogos de Pt^{II} [122]. Este fato configura o maior obstáculo para o planejamento de complexos de Pd^{II} como agentes antitumorais, uma vez que a taxa de troca de ligantes elevada torna estes compostos instáveis, principalmente em meio biológico, dificultando a manutenção da integridade estrutural da espécie ativa, sendo esta inativada precedentemente a chegada ao alvo farmacológico. Além disso, a baixa estabilidade estrutural pode ainda originar espécies reativas inespecíficas que podem provocar efeitos tóxicos [123].

Buscando subverter este problema, a pesquisa em complexos de Pd^{II} que sejam promissores fármacos antitumorais tem se direcionado ao planejamento de compostos que apresentem estruturas estáveis. Neste sentido destaca-se a utilização de ligantes polidentados que funcionem como quelatos. A formação de

anéis quelatos, principalmente com 5 e 6 membros, reconhecidamente atribui maior estabilidade a estrutura do complexo formado por se tratar de mais de uma ligação coordenada, aumentando assim a energia necessária ao rompimento destas ligações e dificultando a saída do ligante da esfera de coordenação [110].

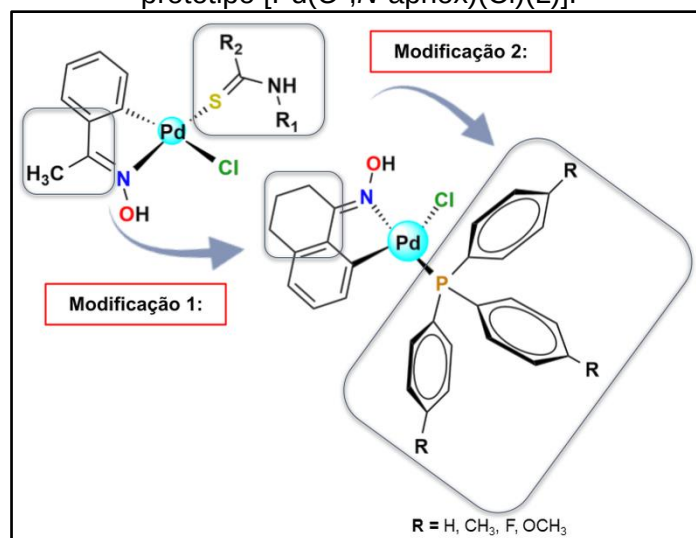
Conforme já exposto, ligantes ortometalados e tiossemicarbazonas intrinsecamente funcionam como ligantes quelatos, em sua maioria C,N e N,S-doadores, respectivamente. Por essa razão, a introdução destas espécies na esfera de coordenação de complexos de Pd^{II} representam estratégias sintéticas interessantes quando se visa a obtenção de espécies estáveis. Ainda, em específico, ligantes tiossemicarbazonas por si só exibem ação antitumoral, podendo potencializar os efeitos terapêuticos dos complexos formados. Conjuntamente, as possibilidades de modulação estrutural de ligantes tiossemicarbazonas podem aprimorar propriedades que interferem na farmacocinética e farmacodinâmica de complexos de Pd^{II}, como por exemplo a funcionalização com o grupo morfolina. A estratégia de incorporação deste grupo em ligantes tiossemicarbazonas para melhorar a solubilidade dos complexos formados em meio biológico já foi reportada para complexos de Cu^{II} [85] e Ag^I [102].

Além da introdução de ligantes quelatos, o planejamento estrutural de complexos de Pd^{II} bioativos tem englobado a inserção de ligantes volumosos que ocasionem impedimento estérico à troca de ligantes na esfera de coordenação. Fosfinas terciárias têm sido amplamente utilizadas neste sentido, não só por serem ligantes volumosos, atribuindo impedimento estérico na troca de ligantes e dificultando a formação do intermediário pentacoordenado no mecanismo associativo de troca de ligantes na esfera quadrática plana, mas também pela força da ligação coordenada Pd-P. A possibilidade de expansão da camada de valência do átomo de fósforo propicia a ocorrência de retrodoação d- π , pela interação dos orbitais 4d semipreenchidos do Pd^{II} com os orbitais 3d desocupados do átomo de fósforo, reforçando a ligação coordenada σ Pd-P. Por esta característica, as fosfinas terciárias são consideradas ligantes π -receptores que formam complexos metálicos cineticamente menos lábeis. Além disso, as possibilidades de modificações nos substituintes da fosfina podem ocasionar

alterações importantes na reatividade dos complexos em meio biológico como o aumento na lipofilicidade [124].

Face ao exposto, são propostas duas séries de compostos de Pd^{II} com fosfinas terciárias como ligante auxiliar: uma organometálica contendo ligante oxima ortometalado e outra com ligante tiossemicarbazona funcionalizado. Considerando os resultados obtidos pelo nosso grupo de pesquisa envolvendo a ação antitumoral de ciclopaladados de fórmula geral [Pd(C²,N-aphox)(Cl)(L)], onde aphox = acetofenonaoxima e L = ligantes tioureia, foram propostas modificações estruturais neste composto protótipo (**Esquema 7**). A primeira modificação no ligante oxima ortometalado, com a inserção de uma porção cíclica alifática ao sistema busca aumentar a cadeia carbônica nesta porção da estrutura, podendo contribuir com a interação do composto com possíveis sítios hidrofóbicos em biomoléculas alvo. A substituição de ligantes tiouréias por fosfinas terciárias visa um aumento do impedimento estérico na posição coordenante, além de os substituintes com características eletrônicas diversas poderem contribuir no reconhecimento molecular em meio biológico, sendo capaz de aumentar a ação antiproliferativa.

Esquema 7: Planejamento estrutural da série de ciclopaladados a partir do composto protótipo [Pd(C²,N-aphox)(Cl)(L)].

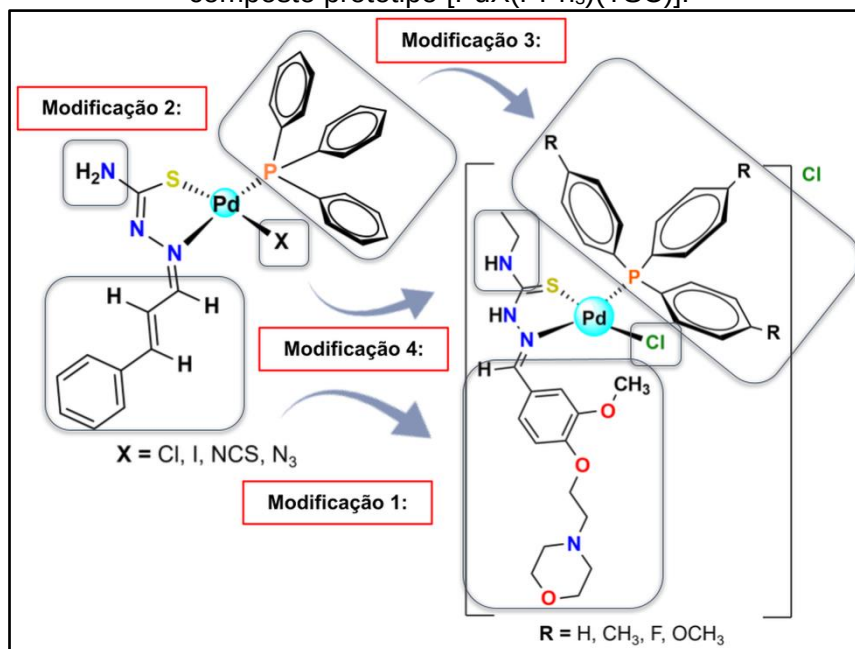


Fonte: Adaptado de Souza, 2019 [55].

Para a série de complexos de Pd^{II} contendo tiossemicarbazona, foram considerados os resultados promissores obtidos pelo nosso grupo de pesquisa

para a série de compostos de fórmula geral $[PdX(PPh_3)(TSC)]$, onde TSC = cinemaldeído-tiossemicarbazona, PPh_3 = trifenilfosfina e $X = Cl, I, SCN, N_3$, propõem-se 4 modificações estruturais neste composto protótipo (**Esquema 8**): a primeira com a substituição da porção cinemaldeído do ligante tiossemicarbazona por vanilina funcionalizada com etilmorfolina, visando melhorar a solubilidade dos complexos formados bem como a inserção de grupos que podem desempenhar papel farmacofórico na estrutura, como o substituinte metoxila; a segunda modificação é a alteração no substituinte N(4) do fragmento tiossemicarbazona pelo grupo etil, objetivando da mesma forma avaliar a contribuição deste substituinte para a ação antitumoral; na terceira modificação propõem-se a substituição do ligante trifenilfosfina por fosfinas terciárias com substituintes de características eletrônicas diversas visando contribuir para o reconhecimento molecular em meio biológico; para a posição do ligante aniônico propõem-se manter o ligante clorido para todos os compostos da série tendo em vista que trabalhos semelhantes tem demonstrado que modificações neste ligante não interferem significativamente na ação antitumoral de complexos de Pd^{II} .

Esquema 8: Planejamento estrutural da série de complexos de Pd^{II} a partir do composto protótipo $[PdX(PPh_3)(TSC)]$.



Fonte: Adaptado de Rocha, 2019[112].

Dessa forma, sob o presente trabalho manifesta-se a hipótese de que compostos ciclopaladados derivados do ligante tetralonaoxima ortometalada e complexos de Pd^{II} contendo vanilina-etiltiossemicarbazona funcionalizada com o grupo etilmorfolina, ambos contendo fosfinas terciárias, representam sistemas promissores a atuação como agentes antitumorais.

4. Objetivos

4.1 Objetivo Geral

Sintetizar, estabelecer relações estrutura-atividade e avaliar o potencial antitumoral de compostos ciclopaladados derivados do ligante tetralonaoxima ortometalada e complexos de Pd^{II} formados por vanilina-etiltiossemicarbazona funcionalizada com o grupo etilmorfolina.

4.1 Objetivos específicos

- ✓ Sintetizar os ligantes bases de Schiff tetralonaoxima (tetrox) e vanilina-morfolina-etiltiossemicarbazona (**L1**).
- ✓ Sintetizar os compostos ciclopaladados de fórmula geral $[PdCl(C^2,N-tetrox)PR_3]$, onde tetrox = E- α -tetralonaoxima, PR_3 = trifenilfosfina (**JC1**), tri(*p*-toluil)fosfina (**JC2**), tris(4-fluoro-fenil)fosfina (**JC3**), tris(4-metóxifenil)fosfina (**JC4**).
- ✓ Sintetizar os complexos de fórmula geral $[PdCl(L1)PR_3]Cl$, onde L1 = vanilina-morfolina-etiltiossemicarbazona, PR_3 = trifenilfosfina (**J1**), tri(*p*-toluil)fosfina (**J2**), tris(4-fluoro-fenil)fosfina (**J3**), tris(4-metóxifenil)fosfina (**J4**).
- ✓ Caracterizar os compostos sintetizados no estado sólido por análise elementar, espectroscopia na região do infravermelho (IV), difração de raios-X em monocristal (DRX) e superfície de Hirshfeld (HS).

- ✓ Caracterizar os compostos sintetizados em solução pela técnica de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, realizando experimentos uni e bidimensionais.
- ✓ Avaliar a estabilidade em solução dos compostos obtidos pelo monitoramento dos espectros de RMN ^1H e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ nos tempos de 0, 24 e 48 h.
- ✓ Estimar o perfil de atividade antioxidante das duas séries de compostos.
- ✓ Avaliar a ação antiproliferativa dos compostos *in vitro* pelo ensaio de MTT, frente a células tumorais de mama (MCF-7 e MDA-MB-231), pulmão (A549) e próstata (DU-145).
- ✓ Determinar a ação antiproliferativa dos compostos frente a uma linhagem não tumoral de fibroblasto de pulmão (MRC-5);
- ✓ Estabelecer, a partir dos valores de concentração inibitória mínima (IC_{50}) frente as linhagens A549 e MRC-5, o índice de seletividade (SI) para os compostos.
- ✓ Investigar a interação dos compostos mais ativos com o DNA a partir de ensaios de titulação por UV-vis, dicróismo circular (CD) e competição com Hoechst – 33258.
- ✓ Avaliar a interação dos compostos mais ativos com a proteína albumina do soro humano (HSA) por fluorescência e estudos *in silico*.
- ✓ Determinar a lipofilicidade (Log de D) da série de compostos contendo o ligante vanilina-morfolina-etiltiossemicarbazona (**L1**).

5. Parte Experimental

Os reagentes e solventes empregados foram obtidos comercialmente em padrão analítico (P.A), sendo desta forma utilizados sem prévia purificação. Na **Tabela 1** estão dispostos os reagentes utilizados, bem como sua procedência.

Tabela 1: Procedência dos reagentes e solventes utilizados.

Reagente	Procedência	Solvente	Procedência
Cloreto de paládio(II)	Vetec	Acetona	Panreac
Cloreto de Lítio	Sigma-Aldrich	DMSO-d ₆	Sigma-Aldrich
<i>N,N'</i> -dimetilbenzilamina	Sigma-Aldrich	Ácido acético	Synth
α -tetralona	Sigma-Aldrich	Etanol	Merck
Cloridrato de hidroxilamina	Merck	Ácido Clorídrico	Synth
Trifenilfosfina	Merck		
Acetato de sódio	Merck		
Tri(<i>p</i> -toluil)fosfina	Merck		
Tris(4-fluorofenil)fosfina	Merck		
Tris(4-metóxfenil)fosfina	Merck		
4-etiltiossemicarbazida	Merck		
Vanilina	Merck		
Cloridrato de <i>n</i> -(2-cloroetil)morfolina	Merck		

5.1 Síntese dos compostos

5.1.1 Síntese dos Ligantes

No trabalho foram sintetizados 2 ligantes pertencentes a classe de compostos bases de Schiff; um ligante derivado de oxima (*E*- α -tetralonaoxima-tetrox) e um derivado de tiossemicarbazona (vanilina-morfolina-etiltiossemicarbazona). O ligante tetrox foi utilizado como ligante ortometalado na família de compostos ciclopaladados (**JC1-4**). Enquanto o ligante L1 foi utilizado para a obtenção da família de complexos **J1-4**.

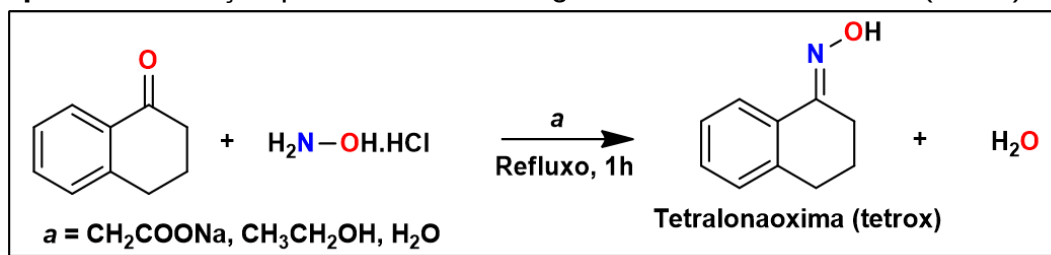
5.1.1.1 Ligante: *E*- α -tetralonaoxima (Tetrox)

O procedimento adotado para a obtenção do ligante tetrox foi adaptado da metodologia reportada por Buchanan e Dawson, seguindo o esquema de

reação apresentado no **Esquema 9** [125]. Desta forma, partiu-se de 100 mg (1,44 mmol) de cloridrato de hidroxilamina e 400 mg (4,88 mmol) de α -tetralona em 2 mL de etanol sob catálise básica. A mistura resultante dos reagentes foi mantida em agitação sob refluxo por 1 h. Após o período de agitação, sob o sistema ainda quente, adicionou-se 25 mL de água destilada gelada e a solução foi deixada sob refrigeração para precipitação do produto. A suspensão final foi filtrada e o ligante foi isolado na forma de um sólido branco cristalino com rendimento de 73 % (118 mg).

Após seco à vácuo, o sólido foi caracterizado pelas técnicas de espectroscopia na região do infravermelho e RMN ^1H , apresentando solubilidade em DMSO e etanol.

Esquema 9: Reação para a síntese do ligante *E*- α -tetralonaoxima (tetrox).



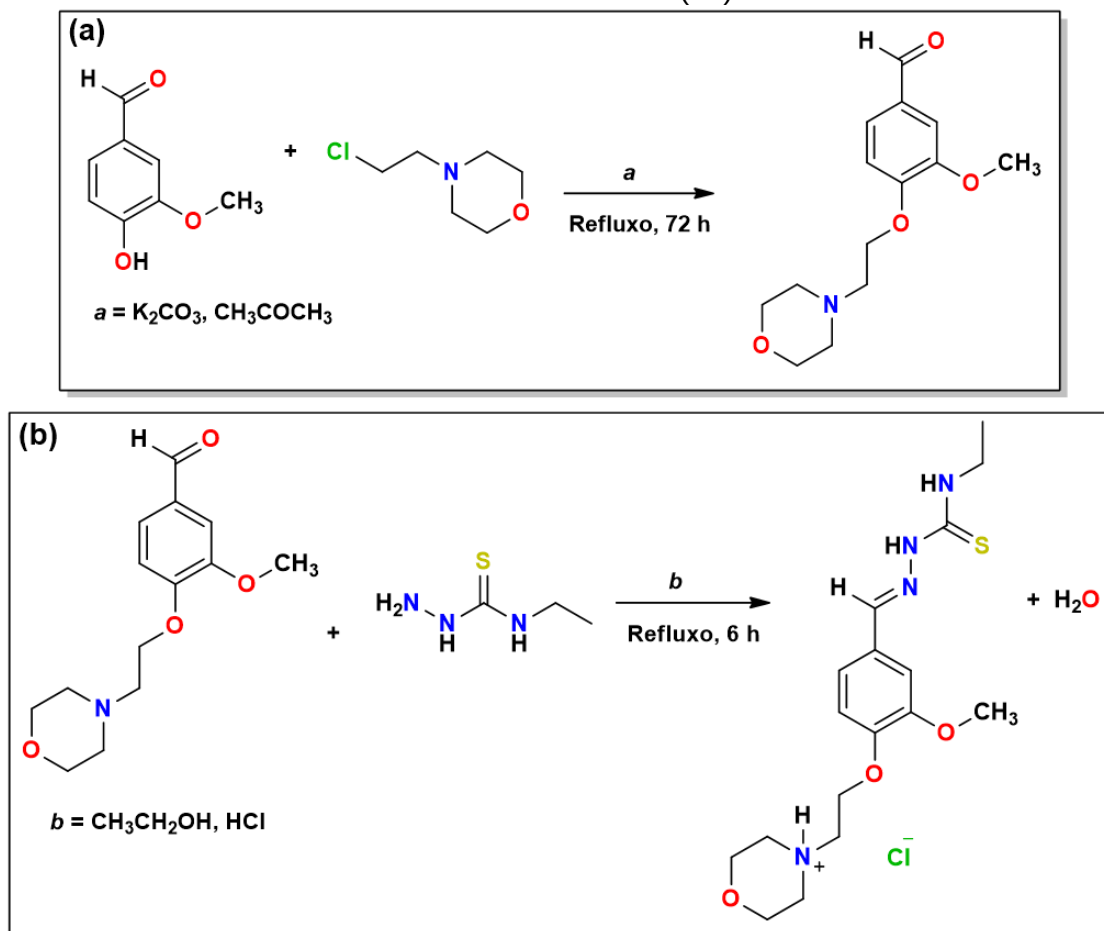
5.1.1.2 Ligante: Vanilina-morfolia-etiltiossemicarbazona (L1)

O ligante L1 foi obtido através de duas etapas de reação (**Esquema 10**): Funcionalização do substituinte fenol na vanilina (**Esquema 10(a)**) e formação do grupo tiossemicarbazona (**Esquema 10(b)**).

A reação para funcionalização da vanilina consistiu em uma reação de substituição nucleofílica, onde o hidrogênio do grupo fenol no anel aromático é substituído pelo grupo etilmorfolina. Desta forma, partiu-se de 5,0000 g (32,8 mmol) de vanilina e 4,0000 g (21,4 mmol) de cloridrato de *n*-(2-cloroetil)morfolina. Os reagentes foram solubilizados em 155 mL de acetona e, a solução, adicionou-se 7,0000 g (50,6 mmol) de K_2CO_3 . A suspensão resultante foi mantida sob agitação sob refluxo por 72 h. Após o período de agitação e resfriamento do sistema, o excesso de K_2CO_3 foi removido por filtração simples e a solução resultante foi rotaevaporada. O produto resultante foi solubilizado em CH_2Cl_2 (50

mL) e a solução foi submetida a sucessivas lavagens com solução 10 % NaOH (100 mL), água destilada (50 mL) e uma solução salmoura KCl (50 mL) para remoção do excesso de vanilina adicionado na reação. O produto oleoso resultante foi seco à vácuo e um sólido amarelo ceroso foi obtido com rendimento de 65 % (4,0000 g). Este sólido foi caracterizado por IV e em sequência foi utilizado na 2ª etapa de obtenção do ligante **L1**.

Esquema 10: Reações para a síntese do ligante vanilina-morfolina-etiltiossemicarbazona (**L1**).



Para a formação do grupo tiossemicarbazona, partiu-se de 500 mg (1,88 mmol) do composto vanilina funcionalizado anteriormente obtido e 224 mg (1,88 mmol) de *N*-etiltiossemicarbazida. Primeiramente o composto vanilina foi solubilizado em 20 mL de etanol e, a esta solução, o reagente *N*-etiltiossemicarbazida foi adicionado na forma sólida. O meio de reação foi acidificado e a mistura resultante foi mantida em agitação sob refluxo por 6 h. Após resfriamento do sistema, a solução de reação foi refrigerada overnight para

precipitação do produto. Um precipitado de coloração amarelo claro foi isolado da solução por filtração à vácuo, apresentando um rendimento de 60 % (415,2 mg). O sólido apresentou-se solúvel em água e em solventes orgânicos polares como etanol, metanol, acetona e DMSO.

Após seco à vácuo, o sólido foi caracterizado pelas técnicas de espectroscopia na região do IV, experimentos uni e bidimensionais de RMN e análise elementar (CHN).

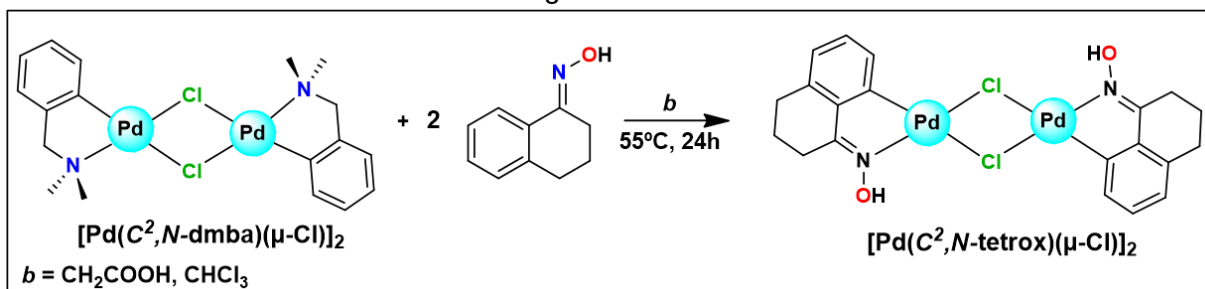
5.1.2 Síntese dos Precursores metálicos

Os monômeros ciclopaladados foram obtidos a partir da clivagem do dímero precursor $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})(\mu\text{-Cl})]_2$ que foi obtido a partir de uma reação de transciclometalação do dímero $[\text{Pd}(\text{C}^2\text{-}N\text{-dmmba})(\mu\text{-Cl})]_2$. Já para a obtenção dos complexos de Pd^{II} derivados de tiossemicarbazonas, utilizou-se o complexo precursor $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$.

5.1.2.1 Precursor $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})(\mu\text{-Cl})]_2$

O dímero precursor $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})(\mu\text{-Cl})]_2$ foi obtido a partir de reação de transciclometalação do dímero $[\text{Pd}(\text{C}^2\text{-}N\text{-dmmba})(\mu\text{-Cl})]_2$, cuja metodologia foi reportada por Ryabov, *et al* [126] e é representada pela reação descrita no **Esquema 11**. O dímero $[\text{Pd}(\text{C}^2\text{-}N\text{-dmmba})(\mu\text{-Cl})]_2$ foi previamente obtido através da reação entre PdCl_2 e o ligante dmmba (*N,N'*-dimetilbenzilamina), conforme metodologia já descrita na literatura [62, 128–130].

Esquema 11: Reação de transciclometalação do dímero $[\text{Pd}(\text{C}^2\text{-}N\text{-dmmba})(\mu\text{-Cl})]_2$ com o ligante tetrox.



Para a reação de transciclometalação, solubilizou-se 135,0 mg (0,838 mmol) de tetrox em 5 mL de uma mistura 1:1 de CHCl_3 : CH_3COOH . Esta solução foi gotejada lentamente sobre uma suspensão do dímero $[\text{Pd}(\text{C}^2\text{-N-dmba})(\mu\text{-Cl})]_2$ (220,5 mg; 0,399 mmol) em 20 mL de uma mistura equivalente de CHCl_3 : CH_3COOH , sob agitação com aquecimento (55 °C). Conforme a adição do ligante tetrox o meio de reação tornou-se solúvel, com coloração amarelo esverdeada e alguns minutos após a adição, observou-se a formação de um sólido verde musgo. Após o período de 24 h de reação, o sólido foi isolado por filtração simples e lavado com uma mistura 1:1 de CHCl_3 : CH_3COOH (15 mL) para eliminação do ligante dmba remanescente no produto. Este sólido foi obtido com 78 % (188 mg) de rendimento e, após seco à vácuo, foi caracterizado por espectroscopia na região do infravermelho.

5.1.2.2 Precursor $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$

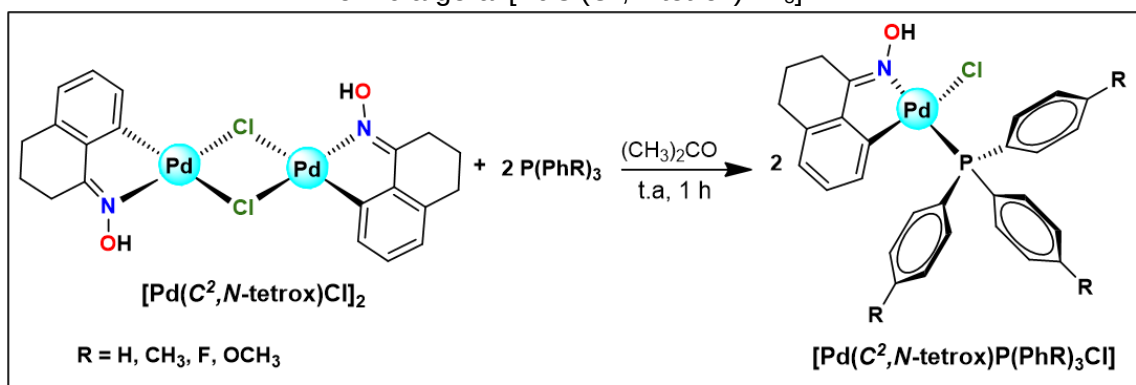
A metodologia de síntese empregada para o precursor foi reportada previamente por Rocha, 2019 [112]. O precursor $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$ foi obtido pela reação de PdCl_2 com CH_3CN . 500 mg (2,81 mmol) de PdCl_2 foram adicionados na forma sólida sobre 20 mL de CH_3CN à quente (50 °C). A solubilização total do sal metálico resultou em uma solução laranja límpida que, após resfriamento e refrigeração, houve a formação de um sólido microcristalino de coloração laranja. Este sólido foi isolado por filtração e, após seco, utilizado para a síntese dos complexos.

5.1.3 Síntese dos Complexos

5.1.3.1 Família de compostos ciclopaladados de fórmula geral $[\text{PdCl}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})\text{PR}_3]$.

Os compostos ciclopaladados monoméricos foram obtidos a partir de uma reação de clivagem do precursor dimérico $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})(\mu\text{-Cl})]_2$, conforme apresentado no **Esquema 12**. O procedimento adotado assemelha-se ao descrito por Bozza, *et al* [130].

Esquema 12: Reação de clivagem para a síntese dos compostos ciclopaladados de fórmula geral $[\text{PdCl}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})\text{PR}_3]$.



Desta forma, partiu-se de 50 mg (0,080 mmol) do dímero $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})(\mu\text{-Cl})]_2$ suspensos em 5 mL de acetona. A esta suspensão foram adicionados lentamente 5 mL de uma suspensão do respectivo ligante fosfínico {(**JC1**) trifenilfosfina [42,0 mg; 0,161 mmol]; (**JC2**) tri(*p*-toluil)fosfina [49,1 mg; 0,161 mmol]; (**JC3**) tris(4-fluoro-fenil)fosfina [51,0 mg; 0,161 mmol]; (**JC4**) tris(4-metóxfenil)fosfina [56,9 mg; 0,161 mmol]} em acetona. Ao final da adição, a suspensão inicial se converteu em uma solução de coloração amarela. As reações permaneceram em agitação por 1 h a temperatura ambiente. Após o período de agitação, as soluções foram filtradas e, com a evaporação lenta do solvente, sólidos que variaram de branco amorfo (**JC1**) a amarelo cristalino (**JC2-4**) foram isolados em rendimentos que variaram de 55 a 79 %.

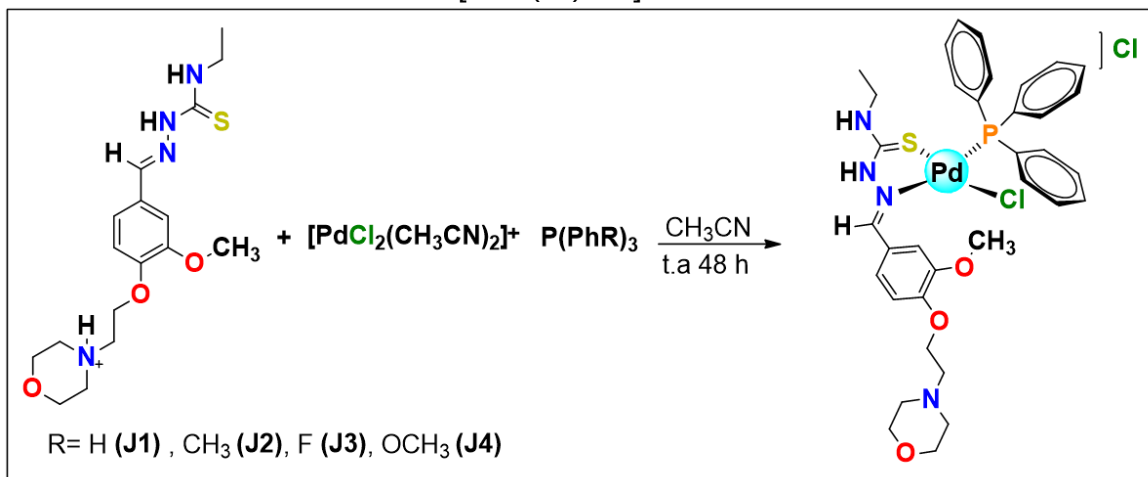
Os monômeros, após secos, foram caracterizados pelas técnicas de análise elementar, espectroscopia na região do infravermelho e RMN. Especificamente, para o composto **JC3** foi possível isolar monocristais adequados a técnica de difração de raios X.

5.1.3.2 Família de complexos de fórmula geral $[\text{PdCl}(\text{L1})\text{PR}_3]\text{Cl}$

Os complexos de Pd^{II} derivados de tiossemicarbazonas foram sintetizados pela metodologia adaptada reportada por Rocha, F. V, *et al*, representada pela reação do **Esquema 13** [112]. Desta forma, partiu-se de uma relação equimolar entre o ligante L1 (70,6 mg; 0,192 mmol), o precursor metálico $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$ (50 mg; 1,92 mmol) e o respectivo ligante fosfínico {(**J1**) trifenilfosfina [50,5 mg; 0,192 mmol]; (**J2**) tri(*p*-toluil)fosfina [58,6 mg; 0,192

mmol]; **(J3)** tris(4-fluoro-fenil)fosfina [60,9 mmg; 0,192 mmol]; **(J4)** tris(4-metóxfenil)fosfina [67,8 mg; 0,192 mmol]}.

Esquema 13: Reação para a síntese dos complexos de Pd^{II} de fórmula geral [PdCl(L1)PR₃]Cl.



Primeiramente o precursor metálico foi solubilizado em 5 mL de CH₃CN sob agitação. A esta solução, gotejou-se 7 mL de uma suspensão contendo o ligante L1 em CH₃CN. A suspensão laranja resultante foi mantida em agitação à temperatura ambiente por 24 h. Após este primeiro período de agitação, gotejou-se sobre a suspensão 5 mL de uma solução contendo o respectivo ligante fosfínico em CH₃CN. A suspensão foi mantida sob agitação por mais 24 h.

Após 48 h de agitação à temperatura ambiente, obtiveram-se soluções coloração amarelo alaranjadas. Os respectivos complexos foram recristalizados em um sistema CHCl₃/pentano, resultando no isolamento de sólidos laranja com rendimentos que variaram entre 67 a 90 %. Após secos, os sólidos foram caracterizados pelas técnicas de análise elementar, espectroscopia na região do infravermelho e RMN.

5.2 Caracterização dos compostos

5.2.1 Análise Elementar (CHN)

Os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio dos compostos foram mensurados em um analisador elementar – Perking Elmer 2400 série II, na

Central Analítica de Instrumentação da Universidade de São Paulo. EDTA, cisteína e acetaldeído foram utilizados como compostos referência em cadinhos de prata, de acordo com o teor de carbono proposto para cada amostra.

5.2.2 Espectroscopia na região do infravermelho (IV)

Os espectros de infravermelho para os compostos foram coletados em um espectrômetro Perkin-Elmer 200 pertencente ao Departamento de Química Analítica, Físico-química e Inorgânica do Instituto de Química – IQ/Unesp-Ar, na faixa espectral de 4000-400 cm^{-1} , utilizando o método de pastilhas de KBr. O tratamento gráfico dos espectros foi feito no programa OriginPro 9.0 [131].

5.2.3 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os experimentos de RMN ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ foram realizados um espectrômetro Multinuclear BRUKER, modelo avance III HD 600, operando a 600 MHz (14,1 T) a 298 K, pertencente ao Instituto de Química- IQ/Unesp-Ar. Assim forma obtidos espectros de experimentos unidimensionais {TOCSY 1D (Total Correlated Spectroscopy), HOMODEC- ^1H (Homonuclear decoupling), NOESY- ^1H (Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy)} e bidimensionais {Cosy ^1H - ^1H (Homonuclear Correlation Spectroscopy), HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (Heteronuclear Single Quantum Coherence), HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (Heteronuclear Multiple Bond Coherence)}. Os espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ foram coletados nos espectrômetros Multinuclear BRUKER (IQ-Unesp/Ar) e Bruker ARX (Universidade Federal de São Carlos – UFSCar), operando a 600 MHz (14,1 T) e 400 MHz (9,4 K), respectivamente.

Os espectros foram coletados utilizando-se como solventes deuterados dimetilsulfóxido (DMSO-d_6) e clorofórmio (CDCl_3). O tratamento gráfico dos espectros foi realizado no software MestreNova 9.0.

5.2.4 Difração de raios X em monocristal (DRX)

As medidas de DRX foram coletadas em um difratômetro XtaLAB Mini (ROW), pertencente ao Instituto de Física da USP São Carlos. Utilizou-se

radiação $K\alpha$ de Mo, monocromizada por cristal de grafite, com comprimento de onda λ de 0,71073 Å, a 21 °C. A resolução estrutural foi realizada com o programa ShelXT, usando o Olex2 [132]. O refinamento foi feito utilizando o pacote de refinamento do programa ShelXT, aplicando o método de minimização dos mínimos quadrados [133] e a posição dos átomos de hidrogênios foram restringidas usando um modelo de equitação padrão dos parâmetros ShelXT [134]. Os arranjos supramoleculares foram analisados utilizando os programas DIAMOND [135] e CCDC Mercury 4.0 [136].

5.2.5 Superfície de Hirshfeld (HS)

A representação gráfica da superfície de Hirshfeld d_{norm} em torno da unidade assimétrica da estrutura cristalina bem como os gráficos de impressão digital 2-D associados foram obtidos utilizando o programa Crystal Explorer (v 3.1)[137].

5.3 Estudo da ação antitumoral dos compostos *in vitro*

A investigação quanto a ação antitumoral iniciou-se pela avaliação da estabilidade dos compostos em solução no período de tempo aplicado aos ensaios de atividade antiproliferativa (48 h). Constatada a estabilidade, foram realizados os ensaios de ação antiproliferativa frente a células tumorais e não tumoral. Para os compostos que apresentaram os resultados mais promissores, foram realizados ensaios com biomoléculas alvo (DNA/HSA). Ainda, conjuntamente a esta etapa do trabalho, estudou-se o comportamento antioxidante dos compostos frente ao radical DPPH.

5.3.1 Estudo da estabilidade dos complexos em solução

O solvente dimetilsulfóxido (DMSO) é aplicado como co-solvente nos ensaios de ação antiproliferativa, tendo em vista a baixa solubilidade de compostos em água. Desta forma, foi avaliada a estabilidade dos compostos em DMSO com o monitoramento dos espectros de RMN ^1H e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h, à temperatura ambiente.

5.3.2 Ensaio de atividade antioxidante (DPPH)

Para o experimento foi utilizada uma metodologia adaptada de Özdemir, 2020 [138]. Desta forma, para a avaliação do potencial antioxidante dos compostos, foi preparada uma solução estoque do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazina) na concentração de 3×10^{-4} M. Soluções estoque dos compostos foram preparadas em dimetilsulfóxido com concentração de 10.000 µg/mL e, posteriormente foram realizadas diluições seriadas em metanol, na faixa de concentração de 400 a 3,12 µg/mL, mantendo a concentração de DMSO menor do que 4 %. Aos eppendorfs contendo os compostos diluídos, foram adicionados 500 µL da solução estoque de DPPH, resultando em um volume total de 1 mL. Os ensaios permaneceram incubados em ausência de luz por 30 min.

Após o período de incubação, as absorbâncias das amostras foram coletadas no espectrômetro Thermo Scientific UV-visível, model Evolution Array (Instituto de Química-IQ/Unesp-Ar) com monitoramento da banda do DPPH em 517 nm, utilizando cubeta com caminho óptico de 1 cm. Para determinar a porcentagem de inibição do radical DPPH frente aos compostos, o controle negativo (radical DPPH livre) foi considerado como 100 % da atividade do radical. Como controle positivo foi utilizado o ácido ascórbico. As porcentagens de inibição do radical DPPH foram calculadas segundo a **Eq.1** abaixo, onde A_0 representa a absorção do controle, A_1 a absorção da amostra e A_2 a absorção da amostra na ausência do radical DPPH. Os ensaios foram realizados em triplicata e os dados tratados no software Origin 9.0.

$$\text{Eq.1 DPPH. scavenging rate (\%)} = \frac{[A_0 - (A_1 - A_2)]}{A_0} \times 100$$

5.3.3 Ensaios de viabilidade celular (MTT)

As linhagens tumorais utilizadas foram obtidas pelo ATCC (American Type Culture Collection) e BCRJ (Banc de células do Rio de Janeiro). As linhagens celulares MCF-7 (câncer de mama), A549 (adenocarcinoma pulmonar humano), MDA-MB-231 (adenocarcinoma mamário humano), DU-145 (câncer de próstata) e MRC-5 (fibroblasto primário não tumoral humano) foram cultivadas em meio DMEM (Vitrocell®). O meio foi enriquecido com 10 % de soro fetal

bovino inativado pelo calor (Gibco[®], USA), suplementado com 50 mg/L de sulfato de gentamicina e 2 mg/L de anfotericina B (Sigma Aldrich), em condições de humidade de 95 % de ar e 5 % de CO₂, a 37 °C. As células foram tripsinizadas utilizando tripsina a 0,01 % em EDTA 1 mM (Gibco[®], USA). As células viáveis aderidas foram contadas aplicando o método de exclusão do corante azul de Trypan (0,04 %). Após a etapa de cultura, as células foram tratadas com os compostos em concentrações na faixa de 1,0 a 100 µM, por 48 h.

Para a realização dos ensaios foram preparadas soluções estoque dos compostos dissolvidos em DMSO de alta pureza a 1 mM. Alíquotas destas soluções foram diluídas no meio de cultura para obtenção da concentração final do ensaio. A concentração final de DMSO foi mantida abaixo de 1 %, sendo que nesta faixa não é observada atividade citotóxica deste solvente.

Assim, a ação antiproliferativa dos compostos foi determinada utilizando o método colorimétrico MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol) [139]. Foram semeadas $1,0 \times 10^4$ células por poço, em microplacas de 96 poços (Kasvi), e foram incubadas para adesão por 24 h. Em sequência as células foram tratadas com diferentes concentrações dos compostos por 48 h e os experimentos foram realizados em triplicata. Após a solução de MTT (100 µM, 1 mg/mL) foi adicionada a cada poço e foi submetido um novo período de incubação de 4 h. Os cristais de formazan formados foram dissolvidos em 100 µL de isopropanol. A densidade óptica foi medida a 540 nm em um leitor de microplacas Bio Tek Epoch. Os valores de concentração inibitória mínima (IC₅₀) foram obtidos a partir da análise das curvas de viabilidade celular utilizando o software gráfico Prisma 5.

5.3.4 Estudos de interação com o DNA

A interação dos compostos promissores com o DNA foi investigada a partir dos experimentos de titulação espectrométrica por UV-vis, dicroísmo circular (CD) e ensaio de competição com o Hoechst-33258. Todos os ensaios foram realizados nos equipamentos do laboratório multiusuários pertencentes ao Instituto de Química-IQ/Unesp Araraquara.

5.3.4.1 Titulação espectrométrica por UV-vis

A metodologia empregada para os ensaios foi adaptada de Hajibabaei, *et al*, 2019 e Villarreal, *et al*, 2017 [140,141]. Primeiramente foi preparada uma solução estoque de ct-DNA em tampão Tris-HCl (5 mM Tris HCl e 50 mM de NaCl, pH 7,4). A pureza da solução de ct-DNA preparada foi avaliada pela razão entre as bandas de absorção em 260 e 280 nm, sendo que razões na faixa de 1,8-1,9 correspondem com uma solução de DNA livre de proteínas. Assim, a concentração de DNA foi determinada pelo coeficiente de absorvidade molar na banda de 260 nm ($\epsilon = 6600 \text{ L/mol.cm}$).

As titulações foram realizadas em cubetas de quartzo de 3,5 mL, onde foi mantida a relação solução tampão Tris-HCl / 2 % DMSO à 25 °C e a concentração dos compostos foi fixada em 20 μM . Os espectros de absorção foram coletados com a adição de quantidades crescentes de ct-DNA, na faixa de 0 a 60 μM . A solução de ct-DNA foi constantemente adicionada tanto na solução dos compostos quanto no branco. A força de interação composto-DNA foi mensurada e avaliada com a aplicação da equação de Benesi-Hildebrand (**Eq.2**), onde A e A_0 representam as absorções da solução dos compostos na presença e na ausência de ct-DNA, os coeficientes ϵ_G e ϵ_{H-G} se referem aos coeficientes de absorvidade molar do composto livre e da solução composto/ct-DNA. A constante K_b foi calculada pela relação entre os coeficientes linear e angular da curva $A_0/(A-A_0)$ por $1/[\text{DNA}]$, utilizando o software Origin 9.0. A variação de energia livre para a interação (ΔG) foi calculada pela equação van't Hoff (**Eq.3**).

$$\text{Eq.2} \quad \frac{A_0}{A-A_0} = \frac{\epsilon_G}{\epsilon_{H-G}-\epsilon_G} + \frac{\epsilon_G}{\epsilon_{H-G}-\epsilon_G} \times \frac{1}{K_b[\text{DNA}]}$$

$$\text{Eq.3} \quad \Delta G = -RT \ln K$$

5.3.4.2 Dicroísmo circular (CD)

Os espectros de CD foram obtidos na região entre 235 a 320 nm, em um espectropolarímetro JASCO (J-815), com acúmulo de 5 scans, no modo de varredura contínua (100 nm/min), à 25 °C. A concentração da solução de DNA

em solução tampão Tris-HCl (5 mM, Tris HCl e 50 mM de NaCl, pH 7,4) foi fixada em 50 μ M. As soluções dos compostos foram recém preparadas em DMSO (1 mM). As adições da solução de DNA foram feitas de modo a se obter uma razão composto/DNA de 0 a 0,4, mantendo uma porcentagem de DMSO menor do que 2 %. As amostras de DNA puro e composto-DNA foram incubadas por 24 h à 37 °C e, após este período, os espectros foram coletados. Os espectros foram tratados no software Origin 9.0.

5.3.4.3 Ensaio de competição com Hoechst – 33258

Para a realização dos ensaios de competição utilizou-se um espectropolarímetro JASCO (J-815), na região de 358 a 660 nm, em comprimento de excitação de 338 nm, 5,0 nm de largura de banda, à 25 °C. A concentração de ct-DNA foi fixada em 60 μ M e do Hoechst – 33258 foi fixada em 6,0 μ M. As soluções recém preparadas dos compostos em DMSO (2 mM), foram adicionadas a solução DNA-Hoechst-33258 de modo a obtenção de concentrações na faixa de 0 a 60 μ M (uma relação molar de 0 para 1 composto/DNA), mantendo uma porcentagem de DMSO menor do que 3 %. Os espectros de fluorescência foram obtidos após 5 minutos entre cada adição. A interação composto-DNA foi na região do sulco menor do DNA foi mensurada aplicando a equação de Stern-Volmer (**Eq.4**). Nesta equação, F_0 e F representam a intensidade de fluorescência da solução do aduto Hoechst-DNA após e antes da adição da solução do composto, respectivamente. O K_{sv} se refere a constante de supressão de Stern-Volmer e $[Q]$ a concentração do composto (supressor). O valor da constante pode ser obtido pela inclinação da curva linear do gráfico de F_0/F por $[Q]$. Os espectros foram tratados no software Origin 9.0.

$$\text{Eq.4 } F_0/F = 1 + K_{sv}[Q]$$

5.3.5 Estudos de interação com Albumina do soro humano (HSA)

Uma solução estoque de HSA foi preparada em solução tampão Tris-HCl ($1,0 \times 10^{-3}$ M, pH 7,4) e foi diluída a $1,0 \times 10^{-6}$ M. Os resíduos de triptofano da HSA, cuja emissão ocorre em 351 nm, foram monitorados pelas diferenças nas intensidades de fluorescência após a adição do supressor (composto **JC3**) na faixa de concentração de 0 a $7,0 \times 10^{-6}$ M. Os espectros de emissão foram coletados em um espectropolarímetro Jasco (J-815), utilizando um acessório de fluorescência com comprimento de onda de excitação de 280 nm. As amostras foram homogeneizadas por 5 minutos à 25 °C. A constante de supressão de Stern-Volmer (K_{sv}) a 298 K e 310 K foi calculada pela **Eq. 5**, enquanto os valores da constante de interação (K_b) e do número de sítios (n) foram obtidos pela equação de Stern-Volmer modificada (**Eq. 6**). Nas equações, F_0 e F representam as intensidades de fluorescência do fluoróforo na ausência e na presença do supressor; K_q é a constante bimolecular do supressor; τ_0 representa a vida útil média da biomolécula na ausência do supressor (10^{-8} s); $[Q]$ é a concentração do supressor; K_{sv} é constante de Stern-Volmer; K_b é a constante de interação; n representa o número de classes de sítios de ligação. Os espectros foram analisados e tratados utilizando o programa Origin 9.0.

$$\text{Eq. 5 } \frac{F_0}{F} = 1 + K_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{sv} [Q]$$

$$\text{Eq. 6 } \log \frac{F_0 - F}{F} = \log K_b + n \log [Q]$$

A metodologia computacional para o docking molecular na HSA foi adaptada de Cunha, G. A; *et al* [62]. A estrutura cristalina da Albumina do Soro Humano (HSA) com a warfarina co-cristalizada ($3,05 \text{ \AA}$ de resolução) foi obtida pelo Protein Data Bank (PDB ID: 2BDX) sendo utilizada como base para os estudos de modelagem. A validação dos parâmetros para o docking foi realizada por redocking da warfarina, utilizando o software CCDC GOLD 5.2 (v. 5.2). O sítio de ligação da warfarina cristalizada foi definido como referência e como local de ligação para avaliação de docking. O desvio da raiz quadrada média (RMSD) do melhor resultado obtido para o cálculo de redocking em relação a posição original da warfarina cristalizada e a capacidade do método de reproduzir as interações originais foram analisadas pelo Discovery Studio Visualizer (DSV /

v17.2.0). Concomitantemente, a estrutura molecular do ciclopaldado **JC3** foi otimizada pelo método PM7 com o MOPAC (v 2016). Por fim, foi realizado o docking molecular rígido da estrutura de **JC3** minimizada no local de ligação da warfarina na HSA, utilizando as condições otimizadas para o método. As interações com a HSA dos resultados de maior pontuação foram avaliadas no Discovery Studio Visualizer (DSV / v17.2.0).

5.3.6 Avaliação da Lipofilicidade dos compostos: determinação do coeficiente de distribuição (log D).

Primeiramente foi preparada uma mistura 1:1 de n-octanol e de uma solução tampão Tris-HCl (5 mM, Tris HCl e 50 mM de NaCl, pH 7,4), a qual foi mantida sob refrigeração por 24 h. Essa primeira etapa foi realizada visando obter o solvente n-octanol saturado em água e, ao mesmo tempo, uma solução tampão saturada em n-octanol, sendo os solventes dessa mistura utilizados nos posteriores experimentos. Após foram medidas a absorção de soluções dos compostos **L1** e **J1**, em diferentes concentrações em n-octanol a fim de avaliar a relação de linearidade das absorções com as concentrações. O experimento para a determinação do coeficiente de partição (log D) baseou-se no método “Shake-flash”, o qual foi realizado em triplicata. Em cada eppendorf foram adicionados 200 µL de uma solução do composto em estudo [**L1** ($8,43 \times 10^{-4}$ M); **J1** ($2,22 \times 10^{-4}$ M)] em n-octanol e 800 µL de solução tampão Tris-HCl. As suspensões foram mantidas em agitação shaker por 24 h. Após, foram adicionados 1000 µL de n-octanol e a fase orgânica dos experimentos foram analisadas por UV-vis. A partir da absorção foram obtidas as concentrações na fase orgânica e, por diferença da concentração inicial, foi determinada a concentração dos compostos na fase aquosa. As concentrações obtidas foram utilizadas na **Eq. 7** para a determinação dos coeficientes de distribuição (log D) [142]. Nesta equação, [conc.]_{oct} e [conc.]_{água} representam as concentrações dos compostos nas fases orgânica e aquosa, respectivamente e $V_{\text{água}}$ e V_{oct} são os volumes de n-octanol e solução tampão Tris-HCl utilizados nos experimentos.

$$\text{Eq. 7 } \log D = \log \left(\frac{[\text{conc.}]_{\text{oct}}}{[\text{conc.}]_{\text{água}}} \times \frac{V_{\text{água}}}{V_{\text{oct}}} \right)$$

6. Resultados e Discussão

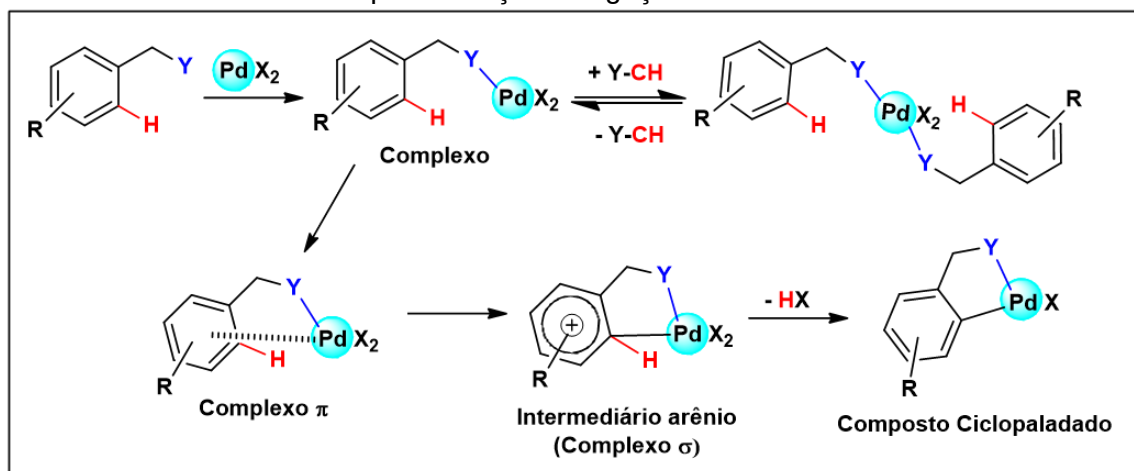
6.1 Síntese e caracterização da família de compostos ciclopaladados de fórmula geral $[\text{PdCl}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})\text{PR}_3]$

Ciclopaladados são comumente obtidos pela promoção de reação de ciclometalação, sendo está empregada desde a descoberta destes compostos [143]. Esta estratégia sintética é considerada pouco onerosa e permite a modulação de propriedades eletrônicas e estéricas do ciclopaladado proposto, principalmente pela seleção dos ligantes que irão compor o arcabouço molecular [60].

Considerando a reação de ciclometalação aplicada a formação de ciclopaladados do tipo CY, tem-se a reação entre um precursor metálico de paládio (Li_2PdCl_4 ou PdCl_2) e um ligante aniônico C-doador contendo um heteroátomo [60]. O mecanismo proposto para esta reação, considerando aspectos cinéticos, envolve primeiramente a coordenação do heteroátomo (Y) ao centro metálico, que promoverá a ativação da ligação C-H, formação da ligação Pd-C por substituição eletrofílica e abstração do hidrogênio pela base presente no meio [144,145].

Segundo a representação do mecanismo proposto apresentado na **Figura 23**, a coordenação do heteroátomo ao centro metálico origina uma espécie intermediária, denominado complexo π , que arranja e posiciona de forma favorável a ligação C-H. A substituição eletrofílica aromática promove a formação do intermediário arênio (Complexo σ) que, pelo enfraquecimento da ligação $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$, sofre abstração do hidrogênio pela base presente no meio, resultando na formação do ciclopaladado [60].

Figura 23: Mecanismo proposto para a formação de compostos ciclopaladados mediado pela ativação da ligação C-H aromática.



Fonte: Adaptado de Dupont, 2008 [60].

Como pode-se constatar pela descrição da reação de ciclometalação, a natureza do heteroátomo, bem como a característica nucleofílica do átomo de carbono da ligação C-H a ser ativada, influem diretamente na obtenção do ciclopaladado [60]. Recorrentemente em reações de ciclometalação para a obtenção de ciclopaladados do tipo CY são empregados ligantes que apresentem um heteroátomo coordenante com propriedades básicas e doadoras favoráveis, além de se considerar a distância entre o heteroátomo e a ligação C-H que determinará o tamanho do anel metalociclo formado (os mais comuns e estáveis são os de 5 e 6 membros) [60]. Levando-se em consideração estas características, benzilaminas como a *N,N*-dimetilbenzilamina (dmba) têm sido amplamente aplicadas como ligante ortometalado na síntese de ciclopaladados [127–129,143].

A transciclometalação se designa a reação de troca de ligantes ortometalados na esfera de coordenação. Para isso, ocorre a quebra de uma ligação Pd-C e a formação de uma nova ligação Pd-C. Segundo estudos cinéticos, primeiramente neste processo ocorre a dissociação da ligação entre o paládio e o heteroátomo, o que torna a ligação Pd-C mais suscetível a quebra, seguido da formação de um sal de paládio que irá coordenar-se ao novo ligante [60].

Ciclopaladados diméricos contendo dmha ortometalado são comumente empregados como precursores para a síntese de outros ciclopaladados por meio da promoção de reações de transciclometalação [130,146]. Isto se deve, além do favorecimento da ortometalação na reação de ciclometalação, a propriedade básica do átomo de nitrogênio coordenado.

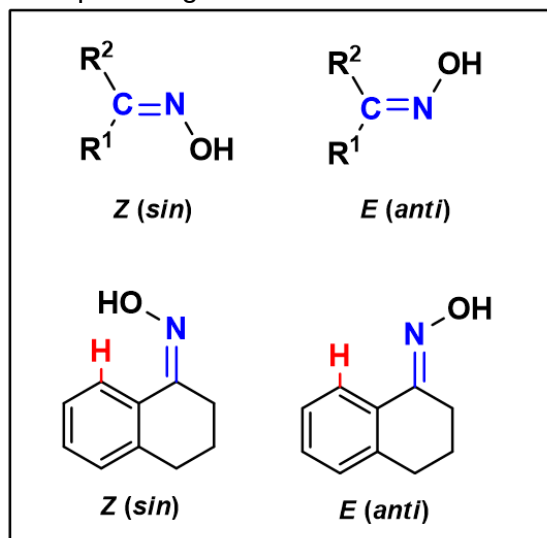
A metodologia para a transciclometalação do dmha foi proposta primeiramente por Ryabov *et al.* 1992. Segundo esta metodologia, o rompimento da ligação Pd-N ocorre pela protonação do nitrogênio coordenado pelo meio ácido da reação, o que impede a recoordenação do heteroátomo ao centro metálico, seguido da acidólise da ligação Pd-C, formação do sal metálico e ortometalação do novo ligante [126]. Considerando o caminho desta reação, o novo ligante ortometalado deve ser menos básico em comparação ao dmha para que se previna a protonação do novo heteroátomo, o que impediria a sua coordenação ao centro metálico [60].

Iminas do tipo oximas apresentam nitrogênio menos básico em comparação ao nitrogênio amínico do dmha ($pK_a \{ (CH_3)_3N \} = 9,80$; $pK_a \{ C_6H_{10}NH \} = 9,2$) [126]. Desta forma, o dímero precursor contendo *E*- α -tetralonaoxima (tetrox) utilizado no trabalho pôde ser obtido a partir da reação de transciclometalação do dímero contendo dmha. A síntese do dímero $[Pd(C^2,N\text{-tetrox})(\mu\text{-Cl})]_2$ utilizando esta estratégia sintética já havia sido reportada na literatura, porém partindo-se do ligante tetrox comercial [147,148].

O ligante tetrox, por se tratar de uma oxima, pode ser facilmente obtido pela reação de adição de hidroxilamina ao composto carbonilado [149]. A depender dos substituintes na ligação C=N do composto oxima, dois isômeros (*E* e *Z*) podem ser obtidos, cuja classificação se baseia na regra de Cahn-Ingold-Prelog. No isômero *E* (*anti*) o grupo OH encontra-se oposto ao grupo de maior classificação, enquanto que para o isômero *Z* (*sin*) o grupo OH encontra-se coincidente ao grupo de maior classificação, conforme representado na **Figura 24** [149]. Considerando a reação de transciclometalação e a formação do metalociclo, o ligante tetrox necessariamente foi obtido na isomeria *E* (*anti*), uma vez que no isômero *Z* (*sin*) o posicionamento do grupo OH impediria estericamente a ativação da ligação C-H aromática (*vide* **Figura 24**). Por esta

razão utilizou-se a metodologia proposta por Buchanan *et al*, 1978 em que o composto tetrox é obtido exclusivamente na isomeria *E* [125].

Figura 24: Representação da isomeria *Z* (*sin*) e *E* (*anti*) para compostos oximas (R^1 representa o substituinte de maior prioridade segundo a regra Cahn-Ingold-Prelog) e para o ligante α -tetralonaoxima.



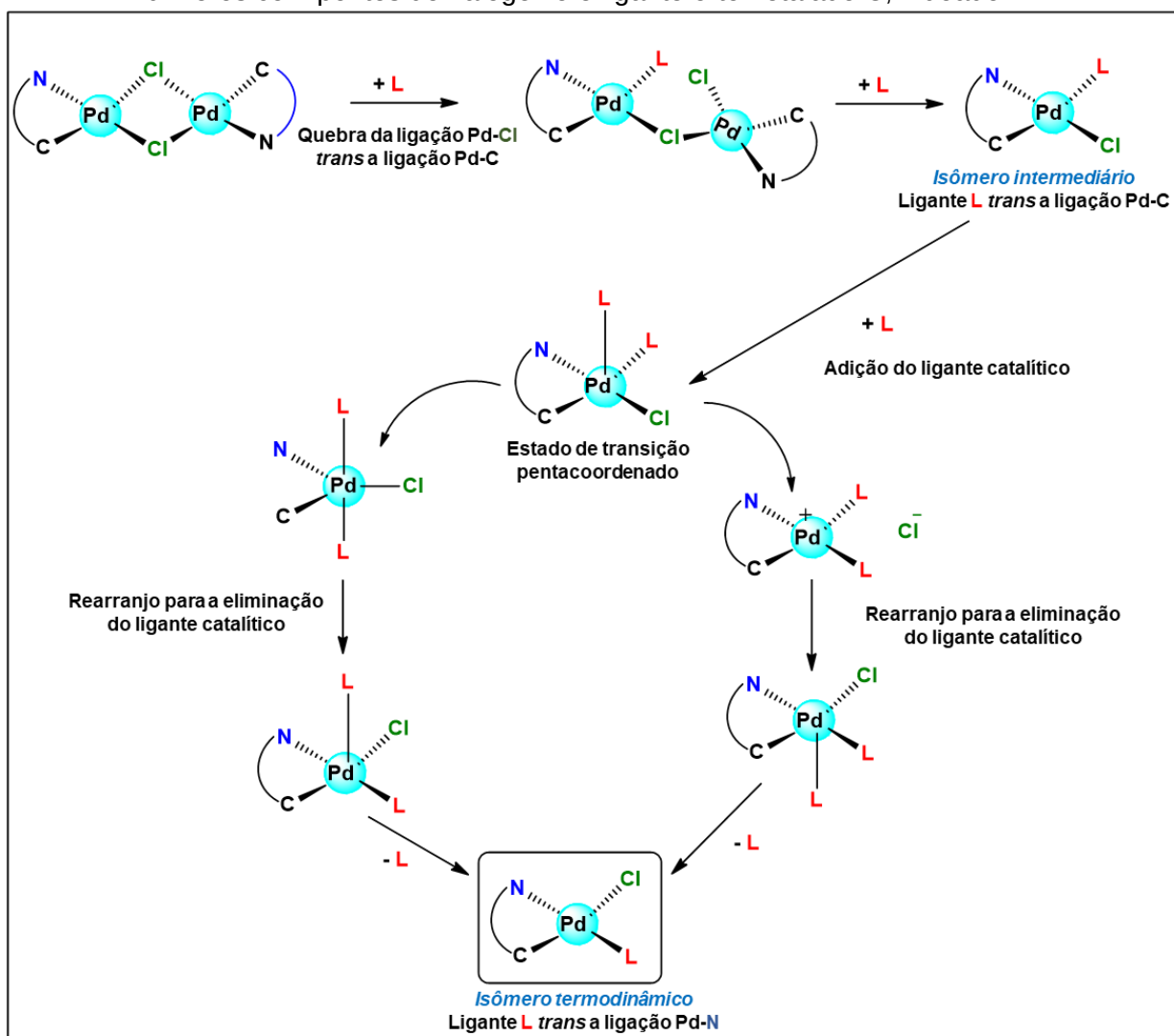
Fonte: Adaptado de Milios, 2006 [72]

Dímeros ciclopaladados com pontes de haletos, como é o caso do dímero $[Pd(C^2,N\text{-tetrox})(\mu\text{-Cl})_2]$, são compostos bastante reativos em função da natureza da ligação coordenada bifurcada dos ligantes clorido, além de apresentarem baixíssima solubilidade em água ou solventes orgânicos [147,149]. Por estas propriedades, a reação de clivagem destes dímeros por ligantes monodentados, como ligantes fosfínicos, conduz a formação de monômeros estáveis que apresentam maior solubilidade em solventes orgânicos como DMSO, DMF e metanol [130]. A distinção na solubilidade entre dímero e monômeros é utilizada como indicativo da efetividade da reação de clivagem, além de tornar as espécies monoméricas mais adequadas a investigação biológica de compostos ciclopaladados, cujos ensaios em sua grande maioria são realizados em meio aquoso [55,150].

A reação de clivagem pode ser considerada uma reação de substituição de ligantes, onde um dos ligantes clorido no dímero é substituído pelo ligante monodentado. Nesta condição, existe a possibilidade de formação de 2 isômeros, a depender do ligante clorido substituído; *trans* a ligação Pd-C ou *trans* a ligação Pd-N. Considerando o maior efeito *trans* direcionador do átomo de

carbono coordenado, o que se esperaria é que o ligante clorido *trans* a ligação Pd-C seria o mais lábil, levando a formação de monômeros onde o ligante monodentado (L) se coordenaria em posição *trans* ao átomo de carbono. Porém, o estudo estrutural de espécies monoméricas já reportados demonstram a formação majoritária de monômeros com o ligante monodentado em posição *cis* ao átomo de carbono [55,130,150]. A fim de justificar as evidências experimentais, estudos mecanísticos para esta reação levaram a proposição do mecanismo para reações de clivagem de dímeros ciclopaladados com ligante ortometalado C,N-doador, apresentado na **Figura 25** [150].

Figura 25: Representação do mecanismo proposto para a reação de clivagem de dímeros com pontes de halogênio e ligante ortometalado C,N-doador.



Fonte: Adaptado de Black, 1994 [150].

Geralmente a reação de substituição em complexos de Pd^{II} ocorre via mecanismo associativo, com a formação de uma espécie intermediária pentacoordenada pela adição do ligante catalítico (L) ao complexo tetracoordenado [150]. A partir da formação desta espécie, duas vias são propostas para a geração do isômero majoritário, não sendo possível a distinção entre elas. Ambas as vias envolvem rearranjos na esfera de coordenação, considerando a minimização de efeitos estéricos entre os ligantes, a fim de propiciar a eliminação do ligante catalítico em posição axial e a formação do isômero com o ligante monodentado em posição *trans* a ligação Pd-N (produto termodinâmico) [150].

A baixa solubilidade apresentada pelo dímero [Pd(C²,N-tetrox)(μ-Cl)]₂ impossibilitou o estudo estrutural deste composto em solução, sendo analisado apenas por técnicas no estado sólido como espectroscopia na região do infravermelho e análise elementar. Os respectivos monômeros, com fórmula geral [PdCl(C²,N-tetrox)PR₃Cl], oriundos da reação de clivagem do dímero com as fosfinas terciárias, apresentaram-se solúveis em solventes orgânicos como dimetilsulfóxido, acetona e dimetilformamida, o que propiciou o estudo destes compostos tanto em solução quanto no estado sólido. Desta forma, o estudo estrutural dos monômeros validaram indiretamente a obtenção do dímero [Pd(C²,N-tetrox)(μ-Cl)]₂.

Na **Tabela 2** são apresentados os rendimentos e o aspecto físico do ligante tetrox, do dímero [Pd(C²,N-tetrox)(μ-Cl)]₂ e dos respectivos monômeros com fórmula geral [PdCl(C²,N-tetrox)PR₃] sintetizados. O rendimento obtido para o dímero (78 %) foi menor em comparação ao rendimento obtido por Nielson, A. J, 1981 (91 %) para o mesmo dímero [148]. Porém, no trabalho citado, o dímero foi obtido por meio de reação de ciclometalação enquanto, no presente trabalho, a obtenção foi por meio de transciclometalação, o que pode justificar a diferença observada entre os rendimentos.

Ainda analisando-se o rendimento do dímero e os rendimentos de dímeros obtidos por transciclometalação de outras oximas, como benzaldeídooxima (81 %) e acetofenonaoxima (92 %), reportados por Ryabov, A. D.; *et al*, 1992, pode-se observar uma tendência a menores rendimentos para

dímeros derivados de cetoximas em relação aos derivados de aldoximas [126]. Além dos rendimentos menores, a transciclometalação de cetoximas necessita de um tempo maior de reação quando comparado às aldoximas (benzaldeídooxima (20 h); tetralonaoxima (24 h); acetofenonaoxima (2 h)) [126,147]. Esta condição pode relacionar-se a um possível efeito de impedimento estérico que grupos alquila podem causar sobre o nitrogênio imínico da oxima, dificultando a coordenação do heteroátomo ao paládio, o que representa a etapa decisiva na cinética da ciclometalação [60].

Tabela 2: Dados físicos e rendimentos dos compostos obtidos na família de ciclopaladados.

Composto		Coloração do sólido	Rendimento % (mg)
Tetrox	$C_{10}H_{11}NO$	Branco cristalino	73 (118)
Dímero	$[Pd(C^2,N\text{-tetrox})(\mu\text{-Cl})_2]$	Verde musgo	78 (188)
JC1	$[PdCl(C^2,N\text{-tetrox})PPh_3]$	Branco acinzentado	64 (58,4)
JC2	$[PdCl(C^2,N\text{-tetrox})P(PhCH_3)_3]$	Amarelo	46 (44,7)
JC3	$[PdCl(C^2,N\text{-tetrox})P(PhF)_3]$	Amarelo	79 (79,0)
JC4	$[PdCl(C^2,N\text{-tetrox})P(PhOCH_3)_3]$	Amarelo	55 (35,1)

Com relação aos rendimentos obtidos para os monômeros, observa-se que as fosfinas com substituintes volumosos como metil (**JC2**) e metóxi (**JC4**), apresentaram os menores rendimentos, 64 % e 55 %, respectivamente. Esta condição também foi observada por Bozza, *et al*, 2019, em monômeros contendo os mesmos ligantes fosfínicos e acetofenonaoxima ortometalada, onde os compostos contendo tri(*p*-toluil)fosfina e tris(4-metoxifenil)fosfina foram obtidos com os menores rendimentos da série, 66 % e 62 %, respectivamente [130]. Substituintes volumosos aumentam o ângulo de cone no ligante fosfínico, tornando o átomo de fósforo menos disponível para a coordenação ao centro metálico, o que explicaria os rendimentos de reação mais baixos [151].

Os dados de análise elementar obtidos experimentalmente, bem como os valores calculados para o dímero e os monômeros são apresentados na **Tabela 3**. Conforme pode-se observar, os teores de carbono, nitrogênio e hidrogênio adquiridos experimentalmente concordam com os valores calculados a partir da fórmula mínima proposta para os compostos, as quais as diferenças entre os

valores foram menores do que 1 %. Nielson, 1981 reportou a síntese do monômero **JC1**, onde os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio encontrados, igualmente ao obtido no presente trabalho, apresentaram diferenças entre os valores calculados e experimentais menores do que 1 % (58,4 (59,6) %C; 4,5 (4,5) %H; 2,4 (2,4) %N) [148]. Frente a isso, o resultado apresentado demonstra a obtenção dos compostos em elevado grau de pureza.

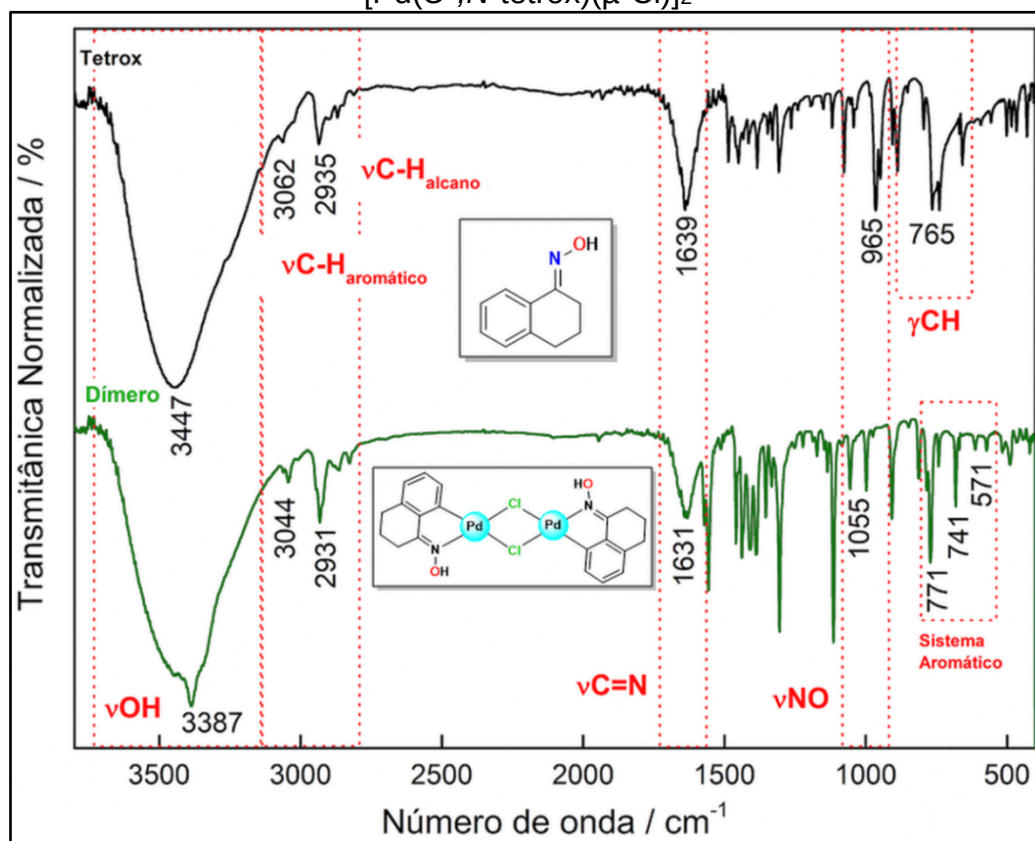
Tabela 3: Dados de análise elementar para o dímero e monômeros.

Composto		% C (cal.)	% H (cal.)	% N (cal.)
Dímero	$[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})(\mu\text{-Cl})]_2$	39,73 (39,76)	3,02 (3,34)	4,62 (4,64)
JC1	$[\text{PdCl}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})\text{PPh}_3]$	59,35 (59,59)	4,29 (4,47)	2,54 (2,48)
JC2	$[\text{PdCl}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})\text{P}(\text{PhCH}_3)_3]$	60,84 (61,40)	4,94 (5,15)	2,34 (2,31)
JC3	$[\text{PdCl}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})\text{P}(\text{PhF})_3]$	55,03 (54,39)	3,68 (3,59)	2,32 (2,27)
JC4	$[\text{PdCl}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})\text{P}(\text{PhOCH}_3)_3]$	54,56 (55,37)	4,64 (4,95)	2,18 (2,08)

6.1.1 Espectroscopia na região do infravermelho (IV) para os ciclopaladados de fórmula geral $[\text{PdCl}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})\text{PR}_3]$

A técnica de espectroscopia na região do infravermelho é amplamente utilizada para a análise preliminar no estado sólido de compostos inorgânicos por fornecer informações estruturais importantes de forma acessível. A partir da observação e investigação de alterações em bandas referentes a modos vibracionais de grupos funcionais chave a coordenação dos ligantes ao centro metálico, pode-se ter um indicativo da formação efetiva do complexo metálico. Em especial para dímeros contendo ligantes oxima ortometaladas, os estiramentos que se referem aos grupos C=N, N-O e OH são destacados como os mais importantes, uma vez que a coordenação quelata destes ligantes ocorre pelo nitrogênio imínico [126]. Desta forma, na **Figura 26** são apresentados os espectros obtidos para o ligante tetrox livre e para o dímero $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})(\mu\text{-Cl})]_2$, destacando as regiões das bandas que se referem aos principais grupos funcionais.

Figura 26: Espectros de infravermelho obtidos para o ligante tetrox e para o dímero $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})(\mu\text{-Cl})]_2$



A banda alargada na região de 3447 cm^{-1} no espectro do ligante tetrox livre, referente ao estiramento νOH , é deslocada para menores comprimentos de onda no espectro do dímero [147,152]. O aumento na frequência de vibração está de acordo com o encurtamento desta ligação em função da alteração no grupo oxima pela quelação ao centro metálico. Ainda o alargamento nesta banda pode relacionar-se a presença de possíveis ligações de hidrogênio tanto na estrutura do ligante tetrox livre, quanto no dímero. As porções alifáticas e aromática do ligante tetrox foram identificadas pela presença de bandas características nas regiões de 3062 cm^{-1} , 2935 cm^{-1} , 765 cm^{-1} , que se referem aos modos vibracionais $\nu\text{CH}_{\text{aromático}}$, $\nu\text{CH}_{\text{alcano}}$ e γCH , respectivamente [152]. O aparecimento destas bandas deslocadas no espectro do dímero evidencia a presença do ligante oxima ortometalado na estrutura do ciclopaladado. Além disso, observa-se o surgimento de 3 bandas nas regiões de 771 cm^{-1} , 741 cm^{-1} e 571 cm^{-1} relacionadas a um sistema aromático trissubstituído, concordando com a proposta de ortometalação [148].

O estiramento ν_{NO} sofreu um deslocamento para maiores números de onda do ligante tetrox livre para o dímero (diferença de 90 cm^{-1}). O valor desta banda para o dímero está de acordo com o valor encontrado por Nielson, 1981 (1055 cm^{-1}) [148]. A banda na região de 1639 cm^{-1} no espectro do ligante tetrox livre, que se refere ao estiramento $\nu_{\text{C=N}}$, é deslocada para menores comprimentos de onda no espectro do dímero (1631 cm^{-1}). A coordenação do nitrogênio imínico do grupo oxima ocasiona um encurtamento da ligação C=N , o que resulta em um aumento na frequência de vibração da ligação, deslocando a respectiva banda para menores comprimentos de onda. Em contra partida, o deslocamento da densidade eletrônica em direção ao nitrogênio imínico alonga a ligação N-O , diminuindo a frequência de vibração e consequentemente deslocando a banda para maiores números de onda [153,154]. Estas observações evidenciam a possível coordenação σ -doadora/ π aceptora do átomo de nitrogênio ao paládio [55,130].

Quanto aos espectros obtidos para os monômeros, foram caracterizadas as principais bandas relacionadas aos grupos modificados pela ortometalação e bandas que demonstram a presença dos ligantes fosfínicos nas estruturas. Desta forma, na **Figura 27** são apresentados os espectros sobrepostos para os compostos **JC1**, **JC2**, **JC3** e **JC4**. Na **Tabela 4** estão dispostos os valores de comprimento de onda dos principais grupos caracterizados para o ligante tetrox livre, para o dímero e para os monômeros.

Figura 27: Espectros de infravermelho para os monômeros de fórmula geral $[\text{PdCl}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})\text{PR}_3]$.

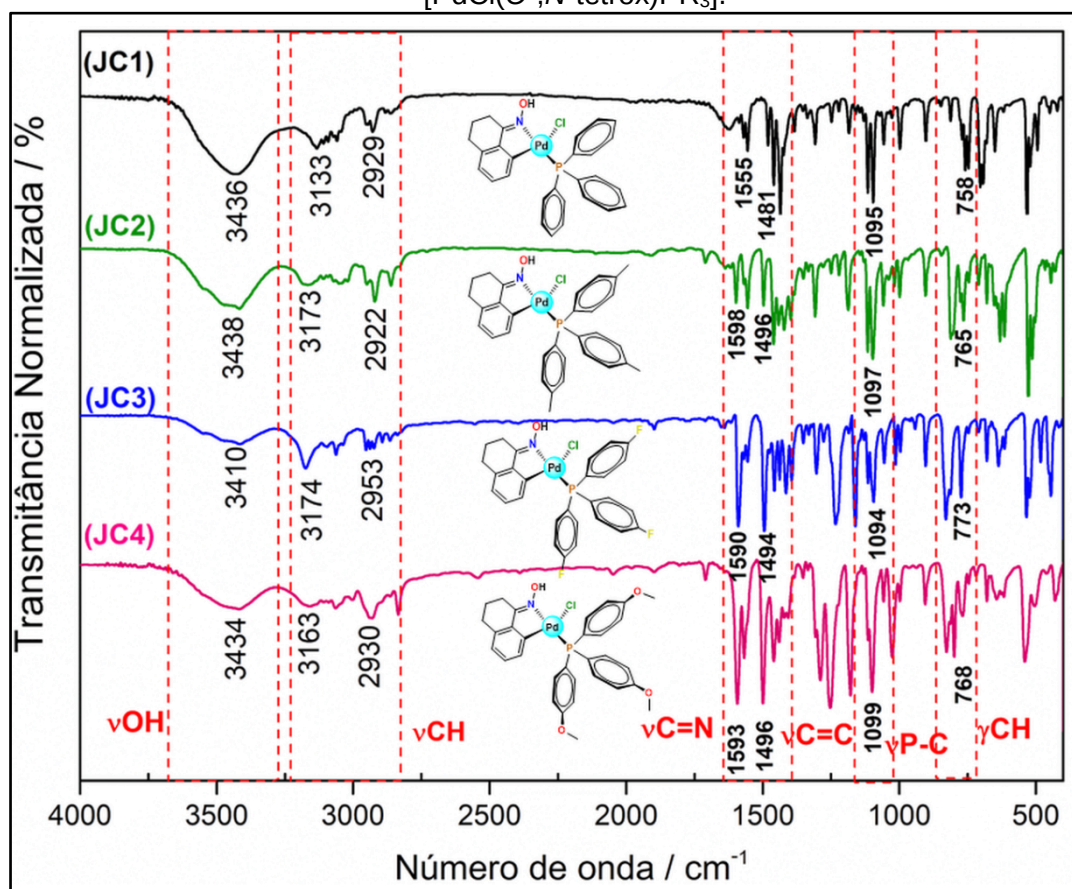


Tabela 4: Principais bandas caracterizadas nos espectros de IV para o ligante tetrox, dímero $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})(\mu\text{-Cl})_2]$ e monômeros de fórmula geral $[\text{PdCl}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})\text{PR}_3]$.

Atribuição	cm ⁻¹					
	Tetrox	Dímero	JC1	JC2	JC3	JC4
νOH	3447 F	3387	3436 m	3438 m	3410 m	3434 m
νCH	3062 f/	3044 f/	3133 f/	3173 f/	3174 f/	3163 f/
	2935 f	2931 f	2929 f	2922 f	2953 f	2930 f
νC=N	1639 m	1631 f	1555 m	1598 m	1590 F	1593 F
νNO	965 m	1055 f	1056 f	1058 f	1055 f	1058 f
νC=C	1485 f	1458 m	1481 F	1496 m	1494 F	1496 F
νP-C	**	**	1095 F	1097 F	1094 F	1099 F
γC-H		771 m/				
	765 m	741 m/	758 m	765 m	773 m	768 m
		571 f				

Intensidade relativa das bandas: forte (F); fraca (f); média (m).

* * = Banda não observada.

A banda que se refere ao estiramento da ligação OH sofreu uma diminuição em sua frequência de vibração e um consequente deslocamento para maiores números de onda, no espectro dos monômeros. Esta condição pode estar associada a possível ocorrência de uma ligação de hidrogênio intramolecular entre o grupo OH e o ligante clorido nos complexos, comumente observada na estrutura de ciclopaladados derivados de oximas [55,130]. O grupo OH, funciona como grupo doador de hidrogênio na referida interação, podendo ocasionar um alongamento da ligação O-H.

A coordenação do átomo de nitrogênio imínico, conforme observado no espectro IV do dímero, desloca a banda $\nu\text{C}=\text{N}$ para menores comprimentos de onda. A ligação $\text{C}=\text{N}$, considerando o mecanismo de reação proposto para a reação de clivagem (*vide* **Figura 25**), sofre influência direta da coordenação em posição *trans* do átomo de fósforo dos ligantes fosfínicos na estrutura dos monômeros. Este efeito pôde ser observado pelo deslocamento da banda $\nu\text{C}=\text{N}$ ainda mais acentuado para menores comprimentos de onda, podendo estar relacionado ao forte efeito *trans* direcionador do átomo de fósforo coordenado [130,153–156]. Juntamente a esta evidência, observa-se o surgimento de uma banda intensa na região entre 1094 e 1099 cm^{-1} nos espectros dos monômeros, sendo esta banda atribuída ao estiramento da ligação P-C. Estes resultados sugerem a presença dos ligantes fosfínicos na estrutura dos monômeros, conforme proposto pela reação de clivagem.

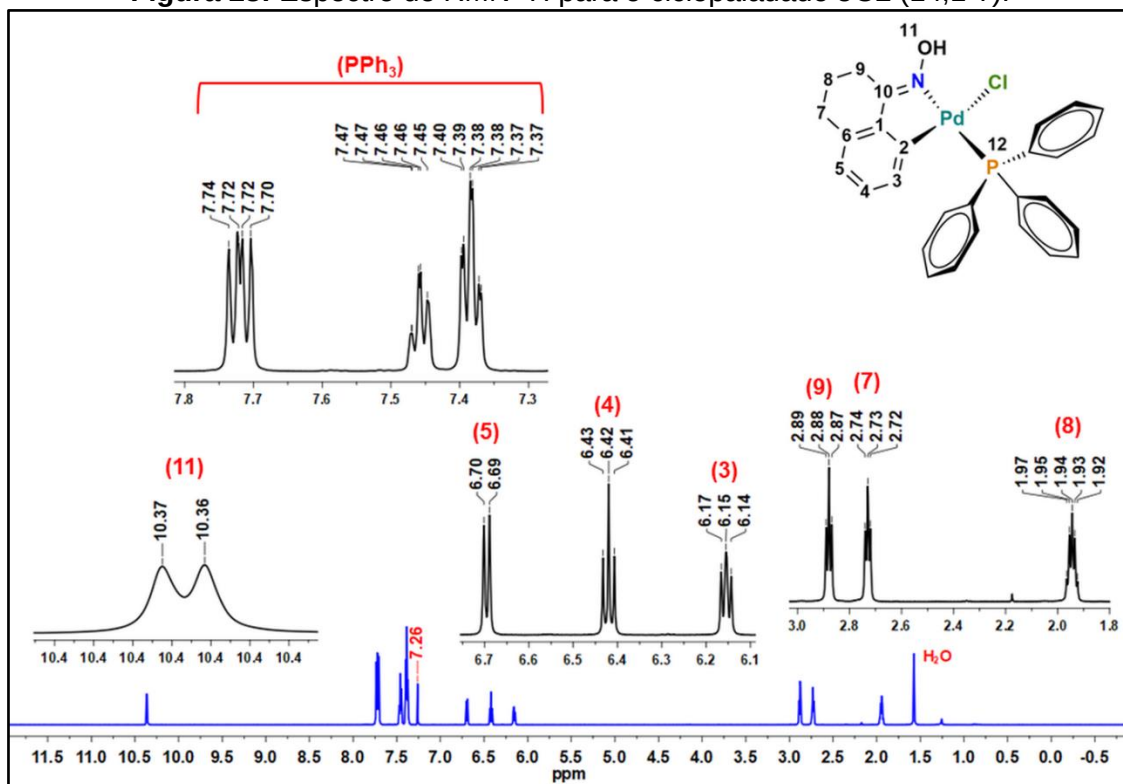
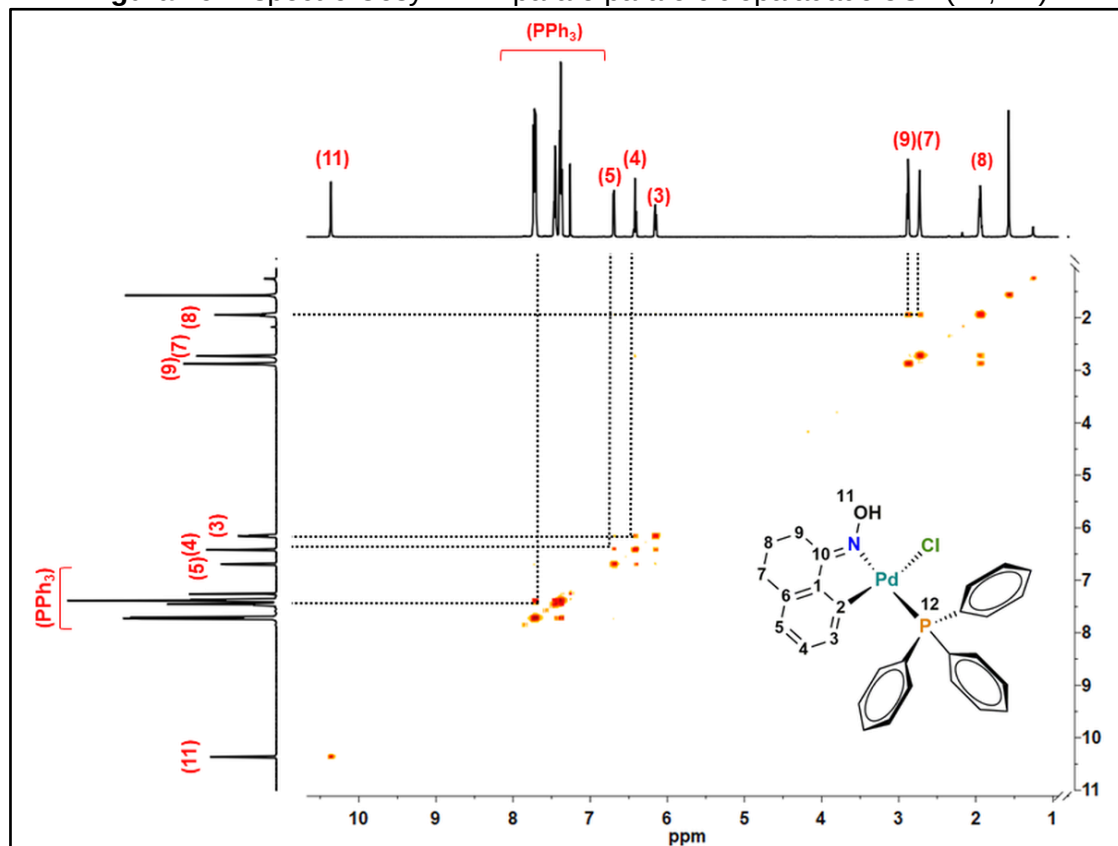
As demais bandas atribuídas aos modos vibracionais νCH , νNO , $\nu\text{C}=\text{C}$ e γCH foram observadas igualmente nos espectros dos monômeros, com deslocamentos semelhantes aos observados no espectro do dímero. Em função destes grupos pertencerem ao ligante tetrox, pode-se sugerir que a reação de clivagem com os ligantes fosfínicos manteve a integridade do sistema ortometalado.

6.1.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear para os ciclopaladados de fórmula geral $[\text{PdCl}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})\text{PR}_3]$

A determinação dos átomos de hidrogênio e carbono podem atribuir informações decisivas com relação a estrutura de um composto [152]. Para os complexos esta caracterização pode elucidar a presença dos ligantes (porções orgânicas) no núcleo coordenante e, a partir de observações quanto a fatores espaciais e eletrônicos, a proposição do posicionamento destes ao redor do centro metálico [157]. Em específico, para monômeros ciclopaladados obtidos pela clivagem de dímeros, o RMN apresenta-se como uma importante ferramenta de caracterização uma vez que estes mostram-se comumente mais solúveis em comparação aos respectivos dímeros. Sendo assim, o estudo estrutural dos monômeros por RMN pode indiretamente atribuir informações estruturais relevantes com relação ao dímero precursor [60]. Ainda, a possibilidade de estudo de outros núcleos, como ^{31}P no caso de ligantes fosfínicos, pode comprovar a presença destes na esfera de coordenação, além da possibilidade de observação de efeitos estéricos e eletrônicos que estes ligantes propiciam ao ambiente de coordenação [158].

A dedução das estruturas dos monômeros **JC1-4** por RMN se deu mediante a obtenção de espectros de experimentos unidimensionais ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e *Cosy* ^1H - ^1H (*Homonuclear Correlation Spectroscopy*) e mapas de contorno dos experimentos *HSQC* ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (*Heteronuclear Single Quantum Coherence*) e *HMBC* ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (*Heteronuclear Multiple Bond Coherence*). Todos os espectros foram obtidos em clorofórmio deuterado (CDCl_3).

A presença de um único conjunto de sinais em todos os espectros RMN ^1H para os monômeros de fórmula geral $[\text{PdCl}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})\text{PR}_3]$, demonstra a ausência de isômeros e a presença de uma única espécie em solução. Além disso, esta condição corrobora com a obtenção dos compostos na forma pura. Na **Figura 28** é apresentado o espectro de RMN ^1H obtido para o monômero $[\text{PdCl}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})(\text{PPh}_3)]$ (**JC1**), bem como o sistema de numeração adotado para a caracterização. Na **Figura 29** é apresentado o espectro obtido pelo experimento de *Cosy* ^1H - ^1H utilizado na definição dos acoplamentos e sistemas de spin na molécula.

Figura 28: Espectro de RMN ^1H para o ciclopaladado **JC1** (14,1 T).Figura 29: Espectro Cosy ^1H - ^1H para o para o ciclopaladado **JC1** (14,1 T).

No espectro de RMN ^1H para o monômero **JC1** observam-se os padrões de sinais referentes aos hidrogênios tanto do ligante tetrox, quanto do ligante trifenilfosfina em uma proporção equimolar, confirmando a presença destes na estrutura do complexo conforme a fórmula molecular proposta. Na região de maior desblindagem verifica-se a presença de um dubleto ($J_{1112} = 3,0$ Hz) referente ao hidrogênio do grupo OH oxima. A presença deste sinal demonstra que este grupo permanece inalterado após a coordenação ao centro metálico. Considerando o ambiente químico deste hidrogênio, esperava-se um singlete pelo distanciamento que impossibilita o acoplamento com outros hidrogênios. Esta suposição pode ser verificada pela ausência de sinais de acoplamento com outros hidrogênios no espectro Cosy ^1H - ^1H . Desta forma propõem-se que o dubleto seja resultado do acoplamento a longa distância (J^4) com o átomo de fósforo coordenado em posição *trans* ao nitrogênio, o que já foi reportado para compostos semelhantes [159].

Na região de hidrogênios aromáticos δ 6,5 a 8,0, estão presentes conjuntos de sinais que se referem a dois sistemas de spin, segundo os sinais verificados no espectro Cosy ^1H - ^1H . Estes sinais compreendem aos hidrogênios aromáticos do ligante tetrox e dos anéis fenila do ligante trifenilfosfina. O dubleto ($J_{34} = 7,8$ Hz) em δ 6,7 e os dois tripletos ($J_{453} = 7,8$ Hz) em δ 6,15 e δ 6,42, que compõem o sistema de spin dos hidrogênios aromáticos do ligante tetrox, se referem respectivamente aos hidrogênios H5, H3 e H4. A presença de apenas 3 sinais integrados para 3 hidrogênios neste conjunto evidencia a metalação do C2 do ligante oxima [126]. Ainda, o sinal referente ao H3 apresentando-se como o mais deslocado do conjunto, para campo mais protegido, pode indicar a proximidade deste hidrogênio do sistema aromático do ligante trifenilfosfina, demonstrando a geometria quadrática plana.

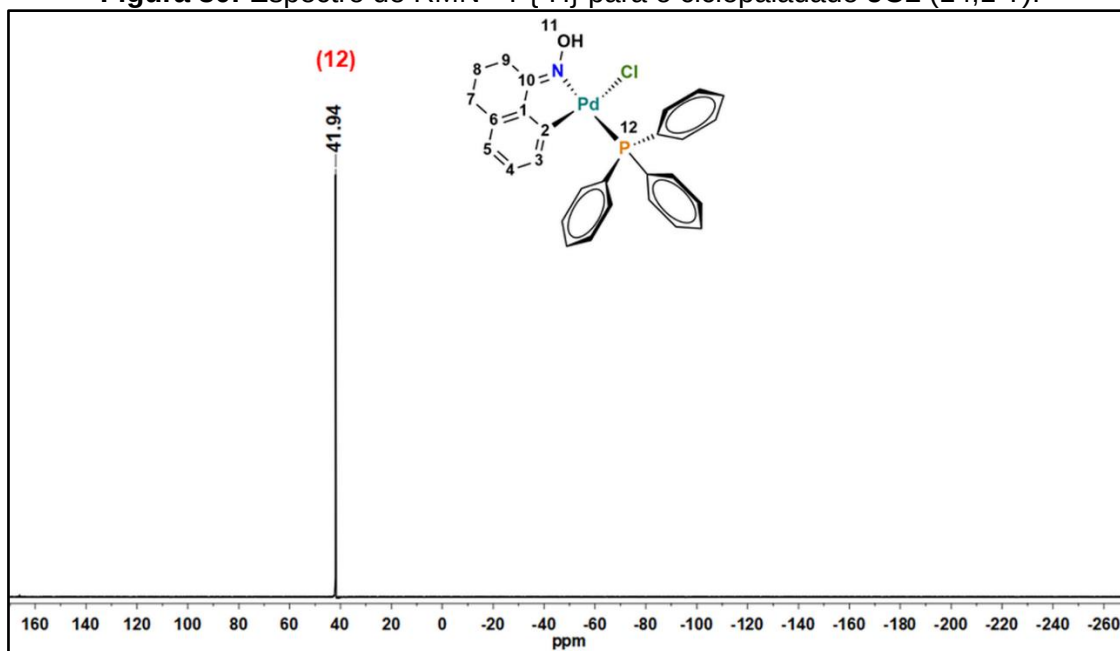
O segundo sistema de spin na região de aromáticos é composto por um multiplete e dois tripletos de dubletos ($J = 7,8$ Hz) nas regiões de δ 7,72, δ 7,46 e δ 7,38. Estes sinais se referem aos hidrogênios fenila do ligante trifenilfosfina. O sinal multiplete com integral para 6 hidrogênios é resultado da sobreposição dos sinais dos hidrogênios em posição orto nos anéis fenila que, pela proximidade do átomo de fósforo, apresentam maior desblindagem. O triplete de

dubletos em δ 7,46, com integral para 3 hidrogênios, representa os hidrogênios em *para* dos anéis fenila no ligante trifenilfosfina, enquanto o sinal em δ 7,46 se refere aos hidrogênios em posição *meta*.

Os hidrogênios da porção alifática do ligante tetrox que compreende o substituinte ciclohexano, são representados pelos sinais nas regiões mais blindadas do espectro. Os tripletos em δ 2,73 e δ 2,88 acoplam com o sinal quarteto em δ 1,95 ($J_{78} = 6,0$ Hz), sendo estes sinais atribuídos aos hidrogênios H7, H9 e H8 respectivamente, segundo a estrutura no anel ciclohexano.

Para complementar o estudo da porção trifenilfosfina no complexo, foi obtido o espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o composto **JC1**, apresentado na **Figura 30**. Por se tratar de uma monofosfina, considerando uma coordenação monodentada ao centro metálico e a não formação de isômeros, esperava-se a presença de apenas um sinal (singleto), conforme foi observado no espectro obtido.

Figura 30: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o ciclopaladado **JC1** (14,1 T).



O deslocamento químico para o ligante trifenilfosfina livre apresenta-se em torno de δ -5, logo o deslocamento do sinal para uma região de maior desblindagem evidencia a ligação do átomo de fósforo ao centro metálico [160]. A coordenação faz com que a densidade eletrônica no átomo de fósforo seja

direcionada ao paládio, desblindando este núcleo, resultando no deslocamento observado [161,162].

O deslocamento químico de δ 41,94 está na faixa para deslocamentos químicos de átomos de fósforo *trans* a nitrogênio ($\Delta\delta$ 40 – 56). Este valor estaria entre δ 20 – 30 caso o átomo de fósforo estivesse *trans* ao ligante clorido, devido ao efeito de blindagem promovido pelos elétrons do átomo de cloro sobre o fósforo [163,164]. Estas informações quanto ao ambiente químico do átomo de fósforo corroboram com a estrutura química sugerida inicialmente para o monômero, estando de acordo também com compostos semelhantes apresentados na literatura [130,159,165].

Os átomos de carbono do composto foram caracterizados a partir da análise conjunta dos espectros obtidos dos experimentos de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135), HMBC $^1\text{H}-^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e HSQC $^1\text{H}-^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, apresentados nas **Figuras 31, 32 e 33**, respectivamente. No espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135), os sinais em fase negativa representam os carbonos quaternários e sp^2 no complexo.

Figura 31: Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DEPT135 para o ciclopaladado **JC1** (14,1 T).

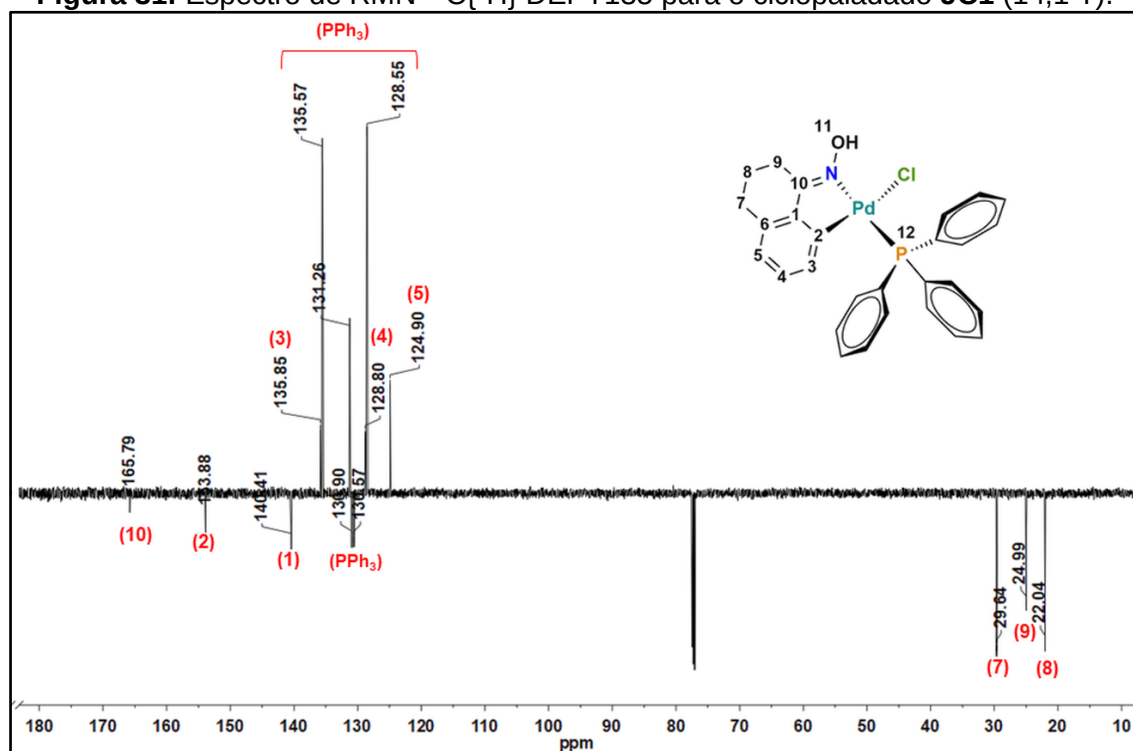


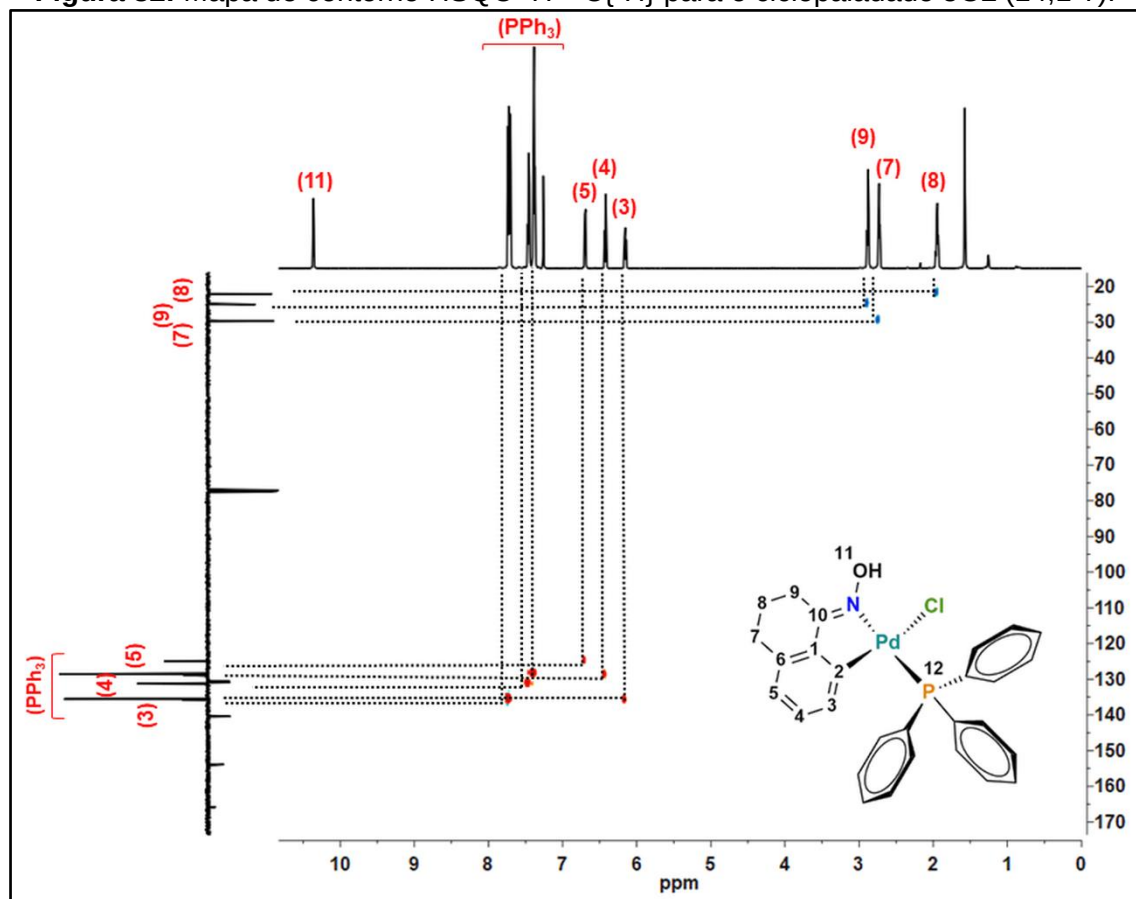
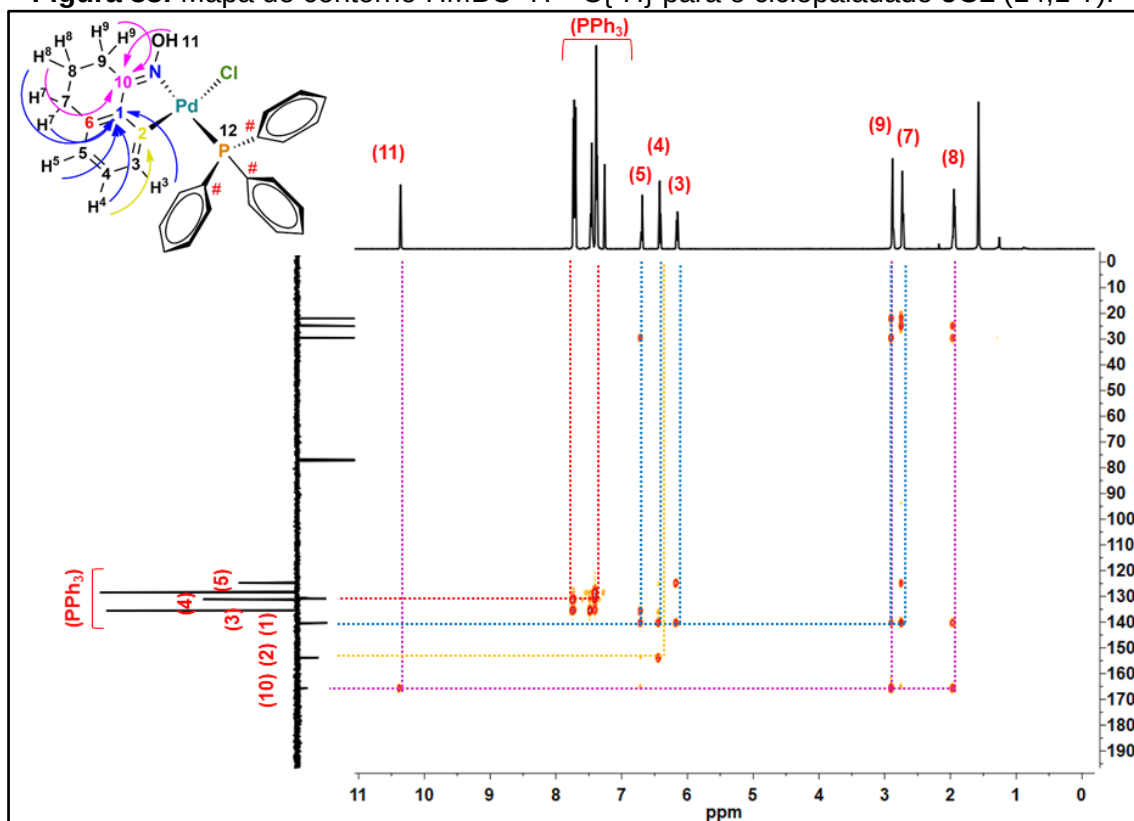
Figura 32: Mapa de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o ciclopaladado **JC1** (14,1 T).

Figura 33: Mapa de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o ciclopaladado **JC1** (14,1 T).

O número de sinais no espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) estão de acordo com o número de carbonos segundo a estrutura proposta para o complexo **JC1**. Pelo mapa de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ os sinais em fase negativa no espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) δ 165,67, δ 153,76, δ 140,41 não apresentam correlação direta a hidrogênios, sendo caracterizados como os sinais de carbonos quaternários. No mapa de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, o sinal mais desblindado do espectro, em δ 165,67 correlaciona-se a longa distância com os sinais em δ 10,36, δ 2,88 e δ 1,95 caracterizados como sendo os hidrogênios H11 (grupo OH oxima), H9 e H8 (anel ciclohexano do ligante tetrox). Por estas correlações, o sinal em δ 165,67 foi atribuído ao carbono C10, do grupo C=N no ligante tetrox. O deslocamento da densidade eletrônica do nitrogênio imínico em direção ao paládio, faz com que este sinal sofra um deslocamento para a região de maior desblindagem do espectro em comparação ao sinal para este carbono no espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) do ligante tetrox livre (δ 117,99, **Anexo 1**). Esta condição evidencia a coordenação do nitrogênio imínico ao centro metálico.

Na região de carbonos aromáticos estão presentes seis sinais no sentido positivo, três destes pertencentes aos substituintes fenila do ligante trifenilfosfina e os demais aos carbonos aromáticos do ligante tetrox. No mapa de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ identifica-se a correlação direta dos sinais em δ 135,85, δ 128,8 e δ 124,90 aos sinais pertencentes aos hidrogênios H3 (δ 6,12), H4 (δ 6,42) e H5 (δ 6,70), evidenciando que estes sinais se referem aos carbonos aromáticos do ligante tetrox C3, C4 e C5, respectivamente. Os três sinais restantes em δ 135,57, δ 128,5 e δ 131,26 no sentido positivo na região de aromáticos, se correlacionam diretamente aos sinais dos hidrogênios do ligante trifenilfosfina, desta forma sendo caracterizados como os carbonos em posição *orto*, *para* e *meta* dos substituintes fenila.

O carbono C2, para o ligante tetrox livre, é identificado como um sinal em sentido positivo na região de δ 93,01 (**Anexo 1**). No espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) para o complexo **JC1** o sinal para este carbono foi identificado em sentido negativo na região de δ 153,76 pela correlação observada no mapa de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ com o hidrogênio H4 aromático do ligante tetrox, evidenciando o perfil quaternário deste carbono e a ortometalação.

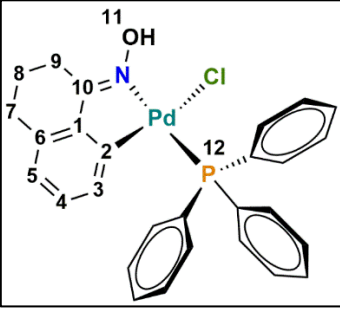
Os demais sinais em sentido negativo no espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) nas regiões de δ 140,29, δ 130,90 e δ 130,57 se referem respectivamente ao carbono quaternário aromático do ligante tetrox e aos carbonos quaternários do ligante trifenilfosfina. O sinal em δ 140,29, pelo mapa de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, correlaciona-se a J^3 aos sinais dos hidrogênios H5 (δ 6,70), H9 (δ 2,88), H3 (δ 6,15), H7 (δ 2,73), e a J^4 com os sinais dos hidrogênios H4 (δ 6,42) e H8 (δ 1,93). Em função destas correlações observadas, o sinal em δ 140,29 é atribuído ao carbono C1 quaternário do ligante tetrox. O sinal referente ao carbono quaternário C6 do ligante tetrox não foi observado no espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) para o complexo **JC1**.

Os sinais em sentido negativo nas regiões de δ 130,90 e δ 130,57, pelo mapa de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, correlacionam-se aos sinais dos hidrogênios aromáticos do ligante trifenilfosfina. Por esta razão estes sinais são identificados como pertencentes aos hidrogênios quaternários do ligante

trifenilfosfina. O espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) para o ligante trifenilfosfina livre apresenta dos sinais em sentido negativo relacionados aos carbonos quaternários nas regiões de δ 136,69 e δ 136,62, demonstrando que, apesar da equivalência entre os três hidrogênios quaternários da estrutura, a disposição espacial dos substituintes fenila ocasionam uma diferenciação entre estes carbonos, comportamento também observado para a estrutura do complexo **JC1**. O deslocamento destes sinais para campos mais altos no espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) para o complexo em comparação ao ligante trifenilfosfina livre demonstra o efeito de blindagem sobre os carbonos quaternários, muito provavelmente em função da retrodoação- $d\pi-p\pi$ promovida pela coordenação do átomo de fósforo ao paládio. Este comportamento foi observado para monômeros ciclopaladados semelhantes contendo ligantes fosfínicos reportados na literatura [130,159].

Os sinais dos carbonos alifáticos da porção ciclohexano do ligante tetrox foram identificados pelos sinais em sentido negativo (carbonos sp^2) com correlações diretas (*vide* **Figura 32**) aos sinais dos hidrogênios H9 (δ 2,88), H7 (δ 2,73) e H8 (δ 1,93). Desta forma, os sinais mais blindados nas regiões de δ 2,73, δ 1,95 e δ 2,88 se referem aos carbonos C7, C8 e C9, respectivamente. Na **Tabela 5** são apresentados os dados e atribuições de RMN realizados para o complexo **JC1**.

Tabela 5: Dados de RMN obtidos para o ciclopaladado **JC1**.

JC1	Posição	$^1\text{H}(\delta)$; Multiplicidade; J [H]; $J(\text{Hz})$	$^{13}\text{C}(\delta)$
	1	**	140,29
	2	**	153,76
	3	6,15; <i>t</i> ; [1H]; $J_{34} = 7,2$	135,73
	4	6,42; <i>t</i> ; [1H]; $J_{453} = 7,8$	128,80
	5	6,70; <i>d</i> ; [1H]; $J_{54} = 7,8$	124,90
	6	**	nd.
	7	2,73; <i>t</i> ; [2H]; $J_{78} = 6,0$	29,64
	8	1,95; <i>q</i> ; [2H]; $J_{879} = 6,6$	22,04
	9	2,88; <i>t</i> ; [2H]; $J_{98} = 6,6$	24,99
10		**	165,79
11		10,36; <i>d</i> ; [1H]; $J_{1112} = 3,0$	**
12		(^{31}P) 41,94; <i>s</i>	**
PPh ₃		7,72/ 7,46/ 7,38; <i>m/ td/ td</i> ; [6H]/ [3H]/ [6H]; $J = 7,8$	135,57/ 131,26/ 128,55/ 130,90

Multiplicidade: (*s*) singleto; (*t*) tripleto; (*d*) dubleto; (*q*) quarteto; (*td*) tripleto de dubletos; (*m*) multipeto. nd; não determinado.

Os espectros de RMN ^1H , $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) obtidos para o complexo **JC2** são apresentados nas **Figuras 34, 35 e 36**, respectivamente. Pela similaridade estrutural com o complexo **JC1**, os espectros dos experimentos Cosy ^1H - ^1H e os mapas de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ são apresentados nos **Anexos 3, 4 e 5**.

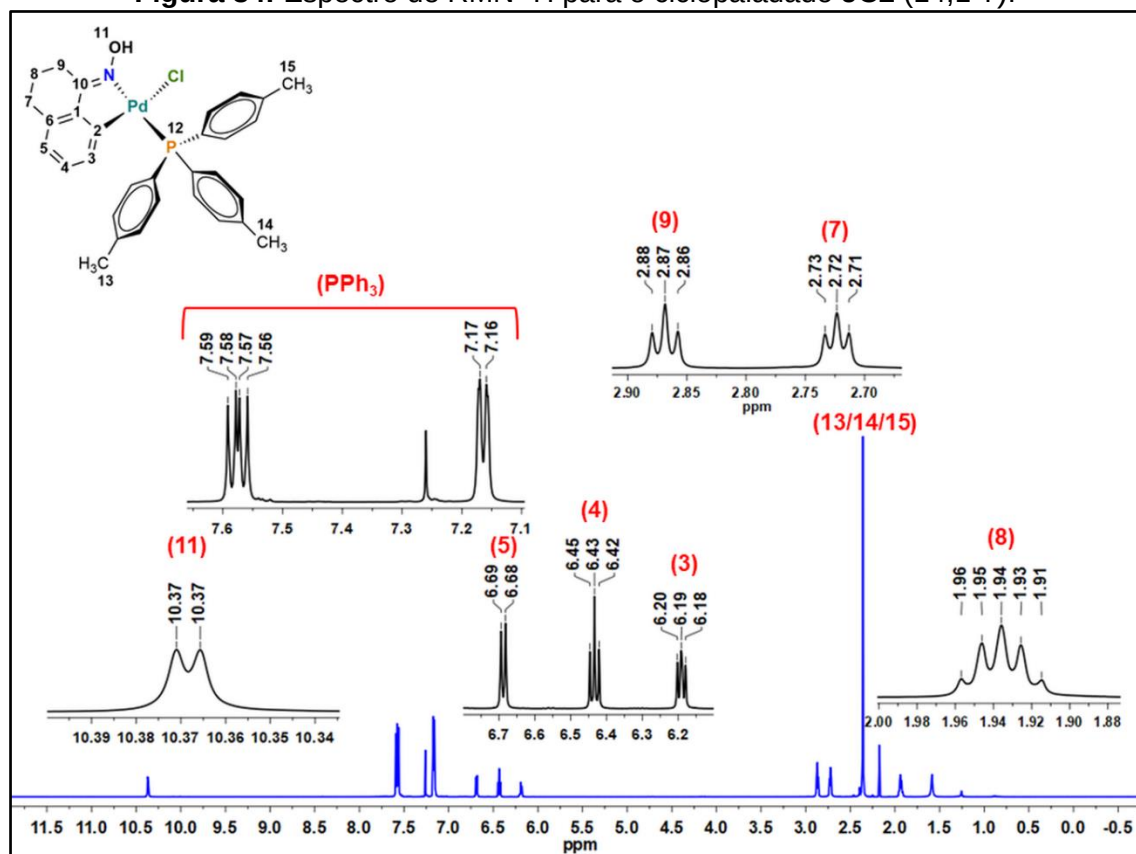
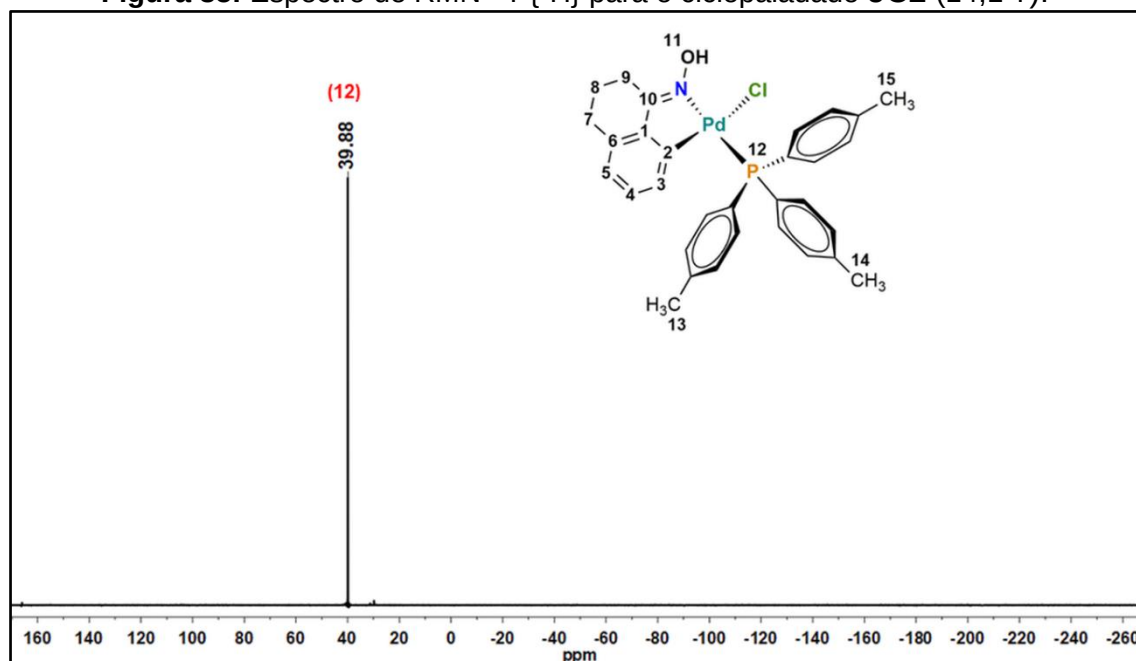
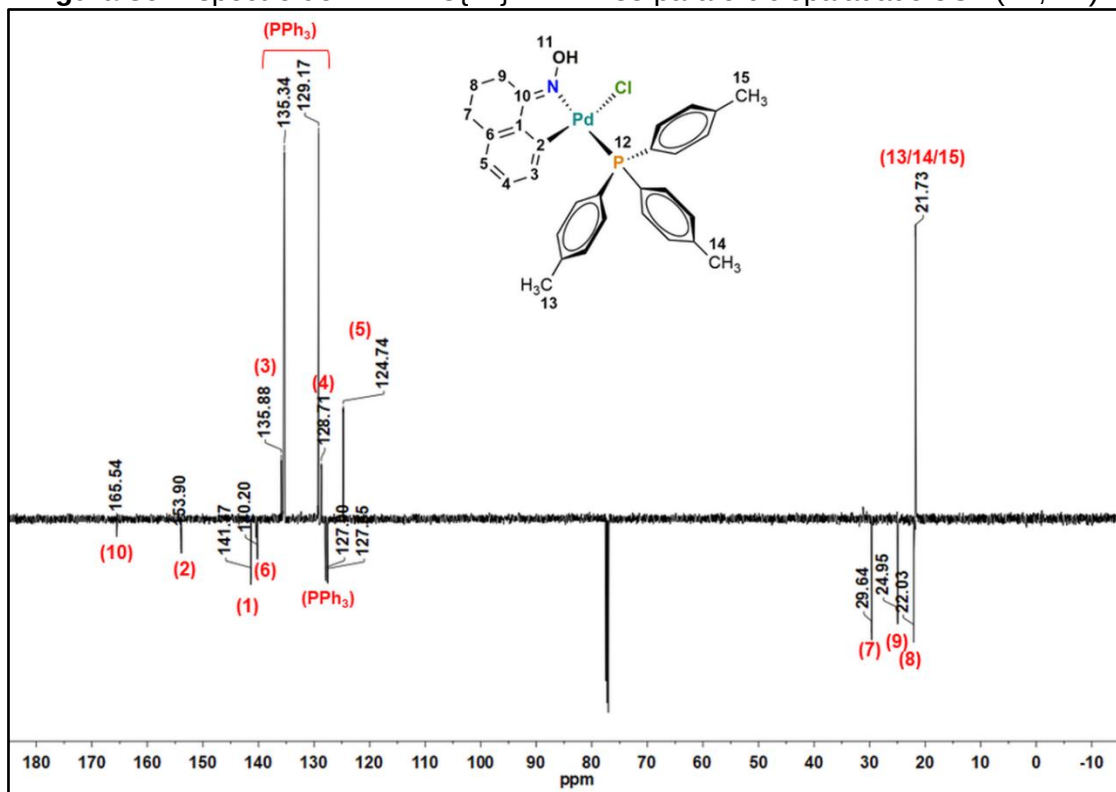
Figura 34: Espectro de RMN ^1H para o ciclopaladado **JC2** (14,1 T).**Figura 35:** Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o ciclopaladado **JC2** (14,1 T).

Figura 36: Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DEPT135 para o ciclopaladado **JC2** (14,1 T).

Assim como o discutido para o espectro RMN ^1H do complexo **JC1**, observam-se os sinais característicos aos hidrogênios tanto do ligante tetrox quanto do ligante fosfínico no espectro RMN ^1H do complexo **JC2** em proporção equimolar, confirmando a presença destes na estrutura do composto formado. O singlete intenso na região de δ 21,73, com integral para 9 hidrogênios, junto aos sinais de hidrogênios alifáticos, refere-se aos substituintes dos anéis fenila do ligante fosfínico.

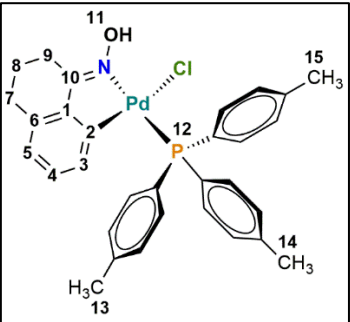
No espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o complexo **JC2** observa-se a presença de apenas um sinal singlete na região de δ 39,88, corroborando com a coordenação monodentada do ligante fosfínico, conforme proposto. Este valor de deslocamento químico encontra-se próximo a faixa de deslocamento químico para átomos de fósforo *trans* a nitrogênio ($\Delta\delta$ 40 – 56), indicando a concordância com a estrutura proposta para o monômero [130,159,163–165].

Com relação a caracterização dos átomos de carbono do composto **JC2**, o número de sinais no espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DEPT135 estão de acordo com o número de carbonos não equivalentes na estrutura do monômero. Em sentido

negativo são observados os sinais referentes aos carbonos sp^2 da porção alifática do ligante tetrox C7, C9 e C8, nas regiões de δ 29,64, δ 24,95 e δ 22,03, respectivamente. Ainda em sentido negativo, são identificados os sinais dos carbonos quaternários do ligante tetrox C10, C2, C1 nas regiões de δ 165,54, δ 153,90, δ 141,37. Diferente do observado para o composto **JC1**, o sinal para o carbono quaternário C6 foi identificado em δ 140,20.

Os sinais referentes aos carbonos aromáticos do ligante fosfínico foram identificados nas regiões de δ 135,34, δ 129,17, δ 127,90 e δ 127,55. Adicionalmente, em sentido positivo, observa-se um sinal na região de maior blindagem do espectro em δ 21,73. Este sinal correlaciona-se ao sinal em δ 2,36 que se refere aos hidrogênios em posição 13, 14 e 15 (*vide* Mapa de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, **Anexo 4**), sendo desta forma atribuído aos substituintes metil dos anéis fenila do ligante fosfínico. Estas atribuições confirmam a inalteração do ligante fosfínico após a coordenação ao centro metálico. A **Tabela 6** resume todos os dados obtidos e interpretados por RMN para o complexo **JC2**.

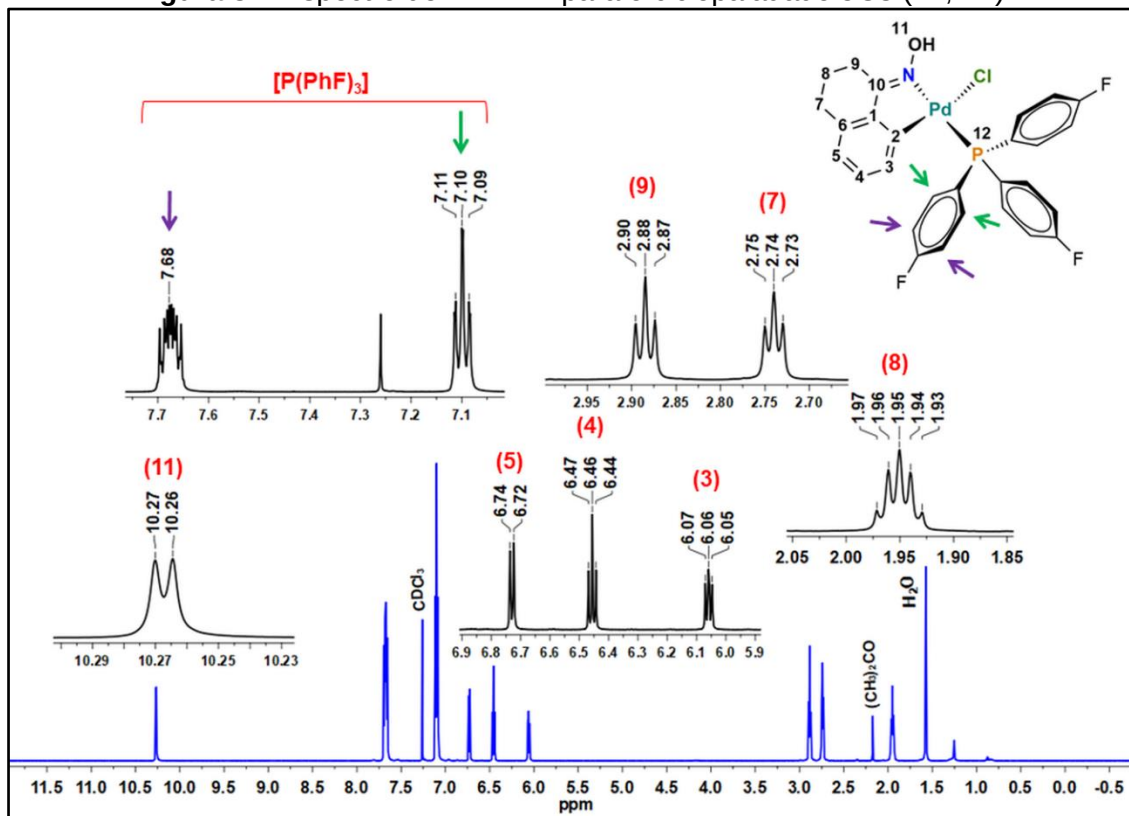
Tabela 6: Dados de RMN obtidos para o ciclopaladado **JC2**.

JC2	Posição	$^1\text{H}(\delta)$; Multiplicidade; J [H]; $J(\text{Hz})$	$^{13}\text{C}(\delta)$
	1	**	141,37
	2	**	153,90
	3	6,19; t; [1H]; $J_{34} = 7,2$	135,88
	4	6,43; t; [1H]; $J_{453} = 7,8$	128,71
	5	6,69; d; [1H]; $J_{54} = 7,2$	124,74
	6	**	140,20
	7	2,72; t; [2H]; $J_{78} = 6,0$	29,64
	8	1,94; q; [2H]; $J_{879} = 6,6$	22,03
	9	2,87; t; [2H]; $J_{98} = 6,0$	24,95
10		**	165,54
11		10,37; d; [1H]; $J_{1112} = 3,0$	**
12		(^{31}P) 39,88; s	**
PR ₃		7,57/ 7,17; m/ dd; [6H]/ [6H]; $J = 6,6/$ 1,8	135,34/ 129,17/ 127,90/ 127,55
13, 14, 15		2,36; s; [9H]	21,73

Multiplicidade: (s) singleto; (t) tripleto; (d) dubleto; (q) quarteto; (td) tripleto de dubletos; (m) multipletto.

Nas **Figuras 37, 38 e 39** são apresentados os espectros de RMN ^1H , $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) coletados para o complexo **JC3**. Os espectros dos experimentos Cosy ^1H - ^1H e os mapas de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para este composto são apresentados nos **Anexos 6, 7 e 8**.

Figura 37: Espectro de RMN ^1H para o ciclopaladado **JC3** (14,1 T).



Chemical structure of the complex is shown, featuring a Pd atom coordinated by a phenylphosphine ligand (P), a chloride ligand (Cl), and a pyridine ring (N). The pyridine ring is substituted with a hydroxyl group (OH) at position 11. The complex is labeled (12).

[illegible]

120

arranjo estrutural previamente proposto. Na região de hidrogênios aromáticos identifica-se um multiplete em δ 7,68 e um tripleto de dubletos na região de δ 7,10, ambos com integração para 6 hidrogênios. Estes sinais se referem aos hidrogênios aromáticos do ligante fosfínico.

O *spin* nuclear de $\frac{1}{2}$ para o flúor, faz com que estes átomos acoplem com os átomos de carbono e hidrogênio próximos [152,166]. Esta condição interfere na multiplicidade dos sinais de hidrogênios vizinhos ao átomo de flúor, o que pode ser observado nos sinais dos hidrogênios aromáticos do ligante fosfínico. Para o sinal tripleto de dubletos em δ 7,10 foram calculadas duas constantes de acoplamento de $J = 7,2$ Hz e $J = 1,8$ Hz, representando os acoplamentos J_{H-F} e J_{H-H} , respectivamente. O valor de J_{H-F} encontra-se na faixa para acoplamentos de hidrogênio aromático em posição *orto* com relação ao átomo de flúor (δ 8 Hz - δ 10 Hz) [166]. Desta forma, o sinal em δ 7,10 é atribuído aos hidrogênios aromáticos a distância J^3 , enquanto o sinal multiplete em δ 7,68 é atribuído aos hidrogênios a distância J^4 dos substituintes flúor nos anéis fenila do ligante fosfínico.

A presença de apenas um sinal singlete na região de δ 39,70 no espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o complexo **JC3**, está de acordo com a proposição de coordenação monodentada para o ligante fosfínico. O valor de deslocamento químico encontra-se próximo a faixa para átomos de fósforo *trans* a nitrogênio ($\Delta\delta$ 40 – 56), corroborando com a estrutura proposta para o monômero [130,159,163–165].

Assim como caracterizado para os compostos **JC1** e **JC2**, o número de sinais observados no espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DEPT135 coincide com o número de carbonos não equivalentes na estrutura proposta para **JC3**. Igualmente ao observado para o espectro de RMN ^1H , a multiplicidade dos sinais referentes aos carbonos aromáticos do ligante fosfínico sofreram influência do acoplamento com o substituinte flúor (J_{C-F}).

Os sinais dos carbonos em posição *orto*, *meta* e *ipso* dos anéis fenila do ligante fosfínico apresentaram-se como dubletos nas regiões de δ 137,27 ($J_{C-F} \cong 37,2$ Hz), δ 115,80 ($J_{C-F} \cong 50,4$ Hz) em sentido positivo e em sentido negativo em δ 126,15 ($J_{C-F} \cong 16,8$ Hz). As constantes de acoplamento J_{C-F} para o ligante

Os espectros de RMN ^1H , $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) obtidos para o complexo **JC4** são apresentados nas **Figuras 40, 41 e 42**, respectivamente. Nos **Anexos 9, 10 e 11** são apresentados os espectros dos experimentos Cosy ^1H - ^1H e os mapas de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$.

Figura 40: Espectro de RMN ^1H para o ciclopaladado **JC4** (14,1 T).

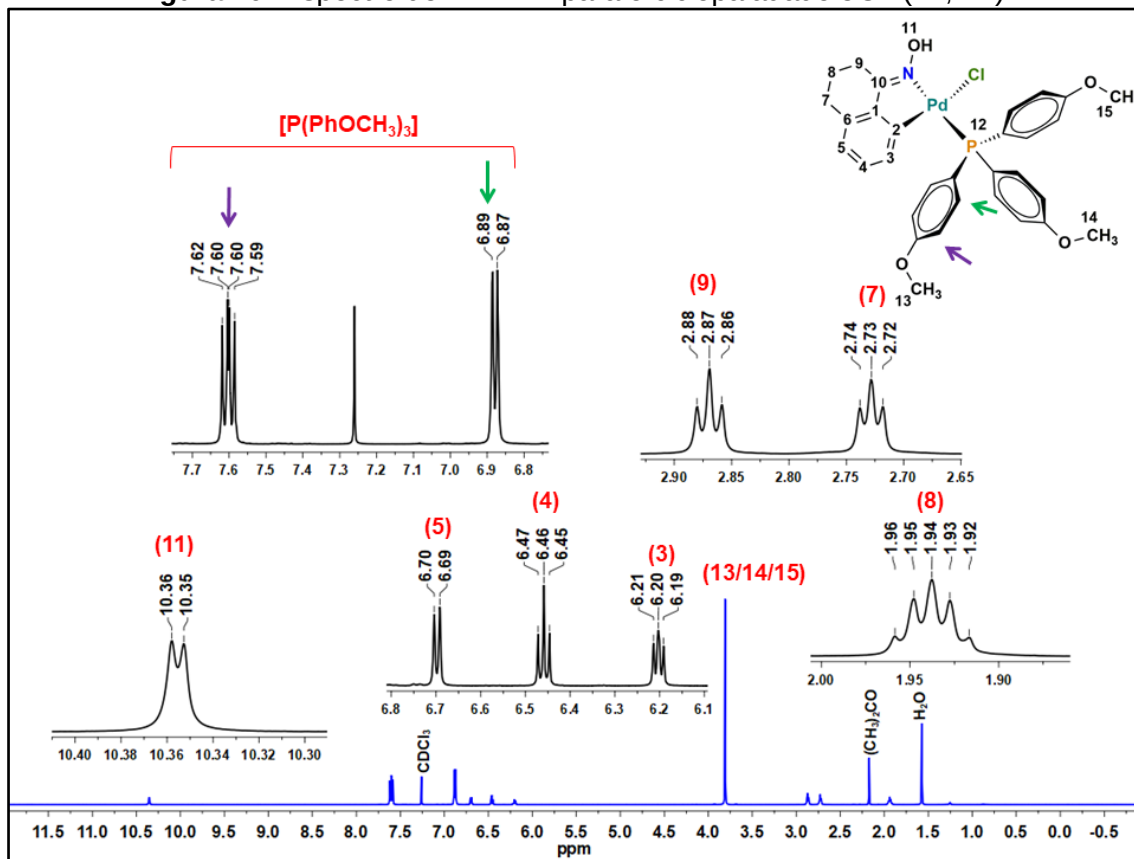
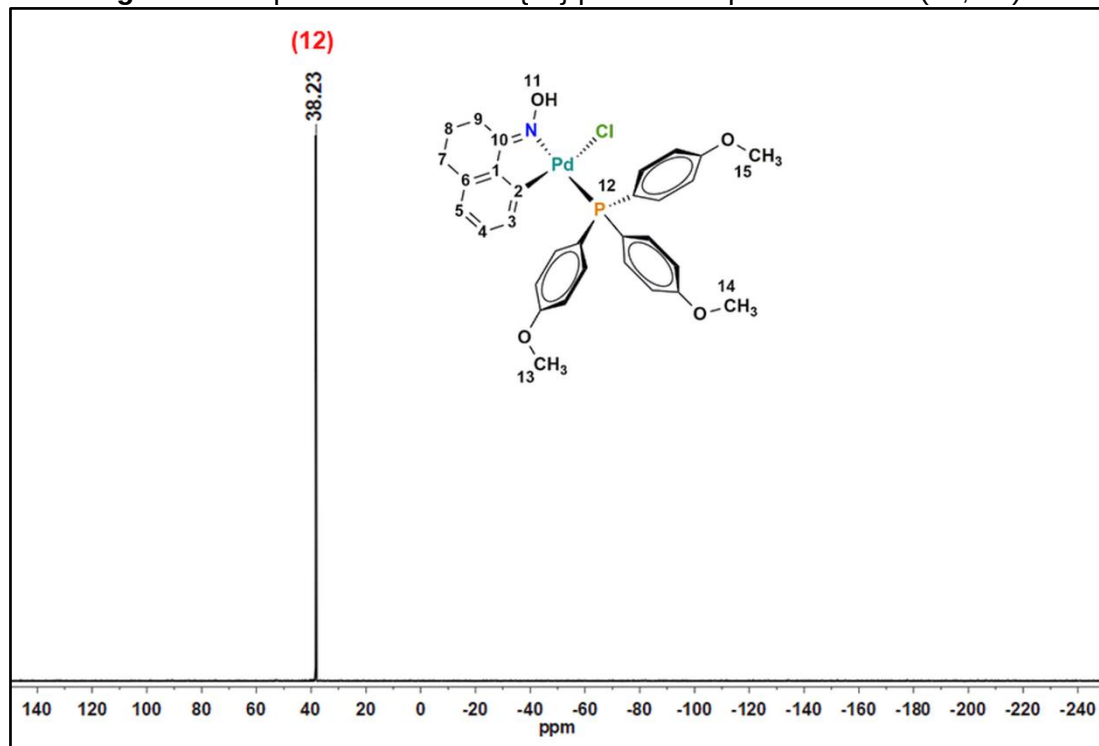
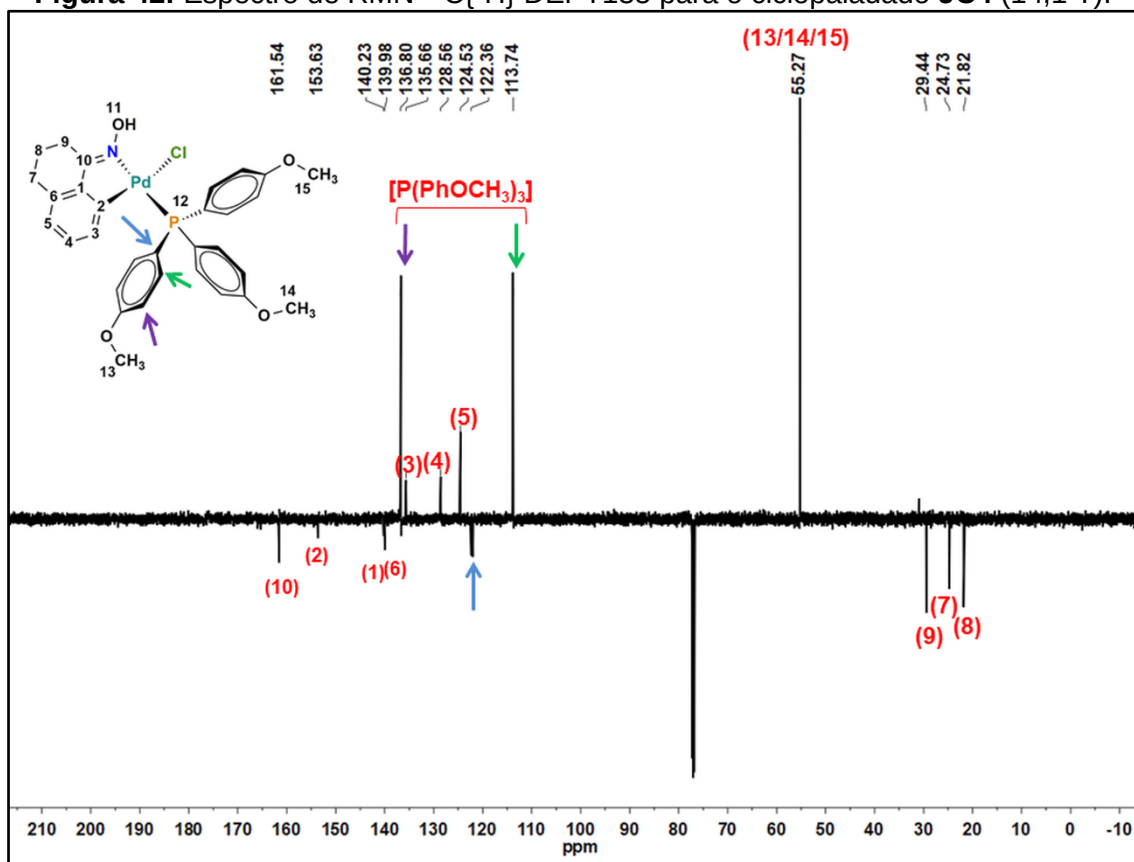


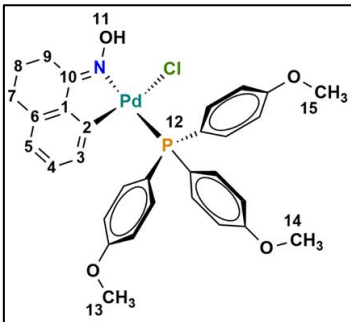
Figura 41: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o ciclopaladado **JC4** (14,1 T).**Figura 42:** Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DEPT135 para o ciclopaladado **JC4** (14,1 T).

Como observado para os demais compostos, no espectro de RMN ^1H para o composto **JC4** foram caracterizados sinais referentes aos hidrogênios de ambos os ligantes tetrox e fosfínico, demonstrando a presença destes em proporção equivalente na estrutura do composto formado segundo a estrutura proposta. Na região de hidrogênios alifáticos observa-se um sinal singlete em δ 3,81 com integração para 9 hidrogênios. Este sinal foi atribuído aos grupos CH_3 dos substituintes metóxi dos anéis fenila no ligante fosfínico. A presença deste sinal juntamente com os sinais multipeto (δ 7,60) e dubleto de dubletos (δ 7,86) com integração para 12 hidrogênios na região dos aromáticos, evidencia a inalteração na estrutura do ligante fosfínico com a coordenação ao centro metálico.

O espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o complexo **JC4** apresenta apenas um sinal singlete na região de δ 38,23, evidenciando a presença de apenas um átomo de fósforo na estrutura, concordando com a coordenação monodentada do ligante fosfínico. O valor para este deslocamento químico encontra-se próximo a faixa de deslocamento para átomos de fósforo *trans* a nitrogênio ($\Delta\delta$ 40 – 56), corroborando com a estrutura previamente proposta para o composto [130,159,163–165].

O número de sinais identificados no espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DEPT135 do composto **JC4** coincide com o número de carbonos não equivalentes segundo a estrutura proposta. Em sentido positivo, na região de δ 55,27 identifica-se um sinal para carbono com hidridização sp^3 , que foi atribuído aos carbonos dos substituintes metóxi dos anéis fenila do ligante fosfínico. Assim como observou-se para os demais compostos da série, os carbonos quaternários C10 e C2 apresentaram os sinais mais desblindados do espectro demonstrando a ortometalação C^2, N do ligante tetrox. Os dados de RMN e atribuições realizadas para o complexo **JC4** são apresentados na **Tabela 8**.

Tabela 8: Dados de RMN obtidos para o ciclopaladado **JC4**.

JC4	Posição	$^1\text{H}(\delta)$; Multiplicidade; $\int$ [H]; J(Hz)	$^{13}\text{C}(\delta)$
	1	**	140,23
	2	**	153,63
	3	6,20; <i>t</i> ; [1H]; $J_{34} = 7,2$	135,66
	4	6,45; <i>t</i> ; [1H]; $J_{453} = 7,2$	128,56
	5	6,70; <i>d</i> ; [1H]; $J_{54} = 7,2$	124,53
	6	**	139,99
	7	2,73; <i>t</i> ; [2H]; $J_{78} = 6,0$	29,44
	8	1,94; <i>q</i> ; [2H]; $J_{879} = 6,6$	21,88
	9	2,87; <i>t</i> ; [2H]; $J_{98} = 6,0$	24,73
10	**	161,54	
11	10,36; <i>d</i> ; [1H]; $J_{1112} = 3,6$	**	
12	(^{31}P) 38,23; <i>s</i>	**	
PR ₃	7,60/ 7,89; <i>m/ dd</i> ; [6H]/ [6H]; $J = 9,0/ 1,2$	139,98/ 122,36/ 113,74	
13, 14, 15	3,81; <i>s</i> ; [9H]	55,27	

Multiplicidade: (s) singleto; (t) tripleto; (d) dubleto; (q) quarteto; (td) tripleto de dubletos; (m) multipletto.

A partir dos dados obtidos, evidencia-se a obtenção dos compostos segundo as estruturas previamente propostas, com a presença de apenas uma espécie em solução. Esta condição propicia a investigação da ação antitumoral destes compostos, onde a técnica de RMN pode ser utilizada para a avaliação da estabilidade em solução no período padrão utilizado nos ensaios biológicos (48 h).

6.1.3 Difração de raios X e Superfície de Hirshfeld para o complexo [PdCl(C²,N-tetrox)P(PhF)₃]

A difração de raios X (DRX) em monocristal têm sido amplamente utilizada como técnica conclusiva para a elucidação de estruturas no estado sólido de compostos orgânicos e principalmente para compostos inorgânicos de estrutura complexa, como compostos de coordenação [168–170]. A radiação no

comprimento de onda de raios X (0,01 a 10 nm) pode ser difratada por planos atômicos em uma amostra cristalina gerando um padrão de difração cuja análise permite a descrição completa e inequívoca da estrutura absoluta do composto [171,172]. O posicionamento dos átomos na célula unitária, comprimentos e ângulos de ligação, sistema cristalino, tipo de retículo e composição da amostra são alguns dos dados obtidos pela análise das imagens de difração geradas pela técnica de DRX em monocristal [173].

Uma estrutura cristalina é considerada uma supermolécula resultado da combinação de diferentes interações intermoleculares originando arranjos supramoleculares por um processo de alto montagem [174]. Neste contexto, o estudo da natureza destas interações torna-se fundamental para a compreensão da arquitetura supramolecular envolvida [130,174]. Dentre as interações intermoleculares destacam-se as ligações de hidrogênio que, em muitos casos, representa a principal interação envolvida no reconhecimento molecular [175–177]. Porém, outras interações de natureza fraca, tais como ligações de hidrogênio não clássicas ($\text{CH}\cdots\text{X}$), $\text{C-H}\cdots\pi$ e $\pi\cdots\pi$ apresentam significativa importância no processo de alto montagem, principalmente em se tratando de estruturas de compostos organometálicos [130,174].

O cálculo da superfície de Hirshfeld (HS) é uma ferramenta útil para o estudo das interações não covalentes que formam a estrutura cristalina, com a predição das tendências presentes no empacotamento cristalino [174]. Por este método, a quantificação e avaliação de interações de natureza fraca como $\text{H}\cdots\text{H}$, $\text{C}\cdots\text{H}$, $\text{C}\cdots\text{C}$ e $\text{X}\cdots\text{X}$ (ligações interhalogênio), que comumente compõem a estrutura cristalina de compostos organometálicos, é realizada pela análise da representação gráfica 3D gerada pela HS (d_{norm}), cujas distâncias dos contatos entre as moléculas são normalizados [178]. A representação gráfica d_{norm} é obtida por funções geométricas de distância d_e (distância entre a superfície e o átomo mais próximo fora da superfície) e d_i (distância entre a superfície e o átomo mais próximo dentro da superfície), geradas pelo mapeamento da HS, relacionadas pela **Eq. 8**.

$$\text{Eq.8 } d_{\text{norm}} = \frac{d_i - r_i^{\text{vdW}}}{r_i^{\text{vdW}}} + \frac{d_e - r_e^{\text{vdW}}}{r_e^{\text{vdW}}}$$

A combinação das funções geométricas de distância d_e e d_i geram gráficos de impressão digital 2D com os quais podem ser quantificadas as contribuições de cada interação para a formação do empacotamento cristalino [137]. Desta forma, o cálculo da HS vem a complementar os dados cristalográficos gerados, funcionando como uma importante ferramenta para a compreensão da rede cristalina formada [130,174,178].

Assim, a evaporação lenta da solução mãe da reação de síntese do complexo **JC3** levou a formação de monocristais adequados à técnica de DRX em monocristal. A medida e refinamento dos dados cristalográficos foram realizadas em colaboração com o Prof. Dr. Javier Elena, do Instituto de Física-USP e com o Prof. Dr. Adriano Bof de Oliveira, da Universidade Federal de Sergipe.

Os dados cristalográficos refinados para o composto **JC3** evidenciaram a formação da estrutura monomérica proposta, com fórmula mínima $[\text{PdCl}(\text{C}^2, \text{N-tetrox})(\text{P}(\text{PhF})_3)]$, concordando com os resultados obtidos de análise elementar (*vide Tabela 3*). O composto cristalizou-se em um sistema monoclinico, sendo pertencente ao grupo espacial $P2_1/c$ (nº 14). Na **Figura 43** é representada a unidade assimétrica do composto **JC3** que é composta por uma molécula do composto, sem a presença de solvato de cristalização. Detalhes experimentais da medida cristalográfica, parâmetros geométricos e condições de refinamento da estrutura, são apresentados na **Tabela 9**. Os principais comprimentos e ângulos de ligação da estrutura são apresentados na **Tabela 10**.

Figura 43: Representação da unidade assimétrica da estrutura cristalina para o composto **JC3**, com a ligação intramolecular H···Cl sendo representada em linha tracejada. As elipsóides térmicas estão representadas com probabilidade de 40 %.

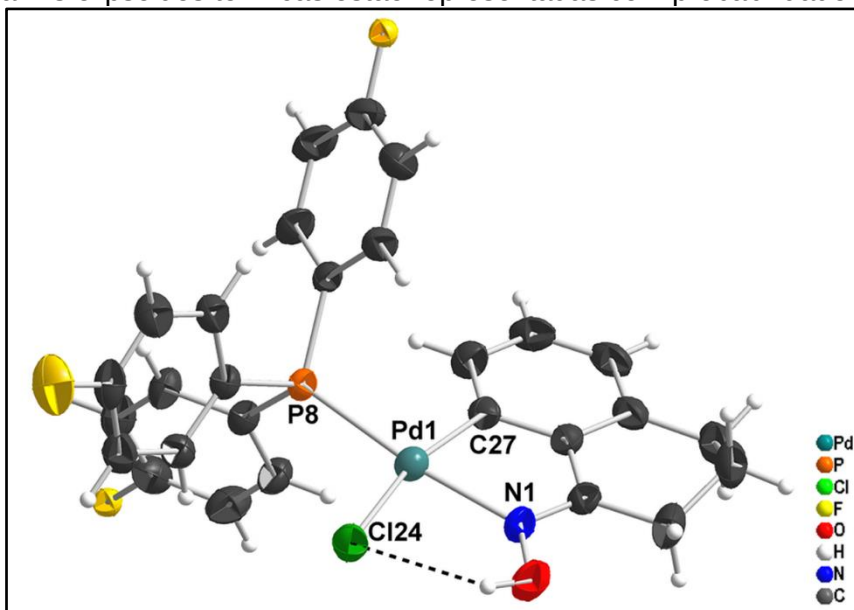


Tabela 9: Dados da coleta de dados cristalográficos do cristal e refinamento para o composto **JC3**.

Dados do Cristal	
Fórmula empírica	C ₂₈ H ₂₂ ClF ₃ NOPPd
Massa molecular (g)	619,79
Temperatura (K)	293
Sistema cristalino	Monoclinic
Grupo espacial	<i>P</i> 2 ₁ /c
Dimensões da célula unitária	
<i>a</i>, <i>b</i>, <i>c</i> (Å)	10,0310(6), 25,4766(14), 10,0013(5)
α, β, γ (°)	90, 94,448(5), 90
Volume (Å³)	2548,2(2)
Z	4
Densidade calculada (mg/m³)	1,616
Coeficiente de absorção (mm⁻¹)	0,94
F(000)	1243
Dimensões do cristal (mm³)	0,78 x 0,36 x 0,11
Intervalos dos índices <i>h</i>,<i>k</i>,<i>l</i>	-11 ≤ <i>h</i> ≤ 14 -39 ≤ <i>k</i> ≤ 19 -15 ≤ <i>l</i> ≤ 15
Nº de reflexos coletados	9970
Nº de medidas independentes (<i>R</i>_{int})	23077 (0.036)
Medidas/ restrições/ parâmetros	326
GOF em F²	1.118
Índices <i>R</i> F_{int} [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]	<i>R</i> (0.052); w <i>R</i> (0.122)

Programas: CrysAlis PRO 1.717.3935c [179], ShelXT [133], ShelXL [180], Olex2 [132].

Tabela 10: Principais comprimentos e ângulos de ligação do composto **JC3**.

Comprimentos de ligação (Å)	
Pd(1)-P(8)	2,2419(7)
Pd(1)-Cl(24)	2,3822(8)
Pd(1)-N(1)	2,063(2)
Pd(1)-C(27)	2,005(3)
P(8)-C(9)	1,820(3)
P(8)-C(15)	1,810(3)
P(8)-C(2)	1,809(3)
N(1)-C(25)	1,282(4)
O(36)-H(36)	0,820(0)
Ângulos de ligação (°)	
P(8)-Pd(1)-Cl(24)	96,95(3)
N(1)-Pd(1)-P(8)	173,49(8)
N(1)-Pd(1)-Cl(24)	87,35(8)
C(27)-Pd(1)-P(8)	95,57(9)
C(27)-Pd(1)-Cl(24)	167,47(9)
C(27)-Pd(1)-N(1)	80,21(12)

Os comprimentos de ligação e os ângulos diferentes de 90° e 180° em torno do centro metálico no núcleo coordenante demonstra a formação de um complexo de geometria quadrática plana distorcida. O núcleo metálico é formado pelo ligante tetrox coordenado de forma quelata bidentada através dos átomos de C_{sp^2} e N [Pd(1)-C(27): 2,00(3); Pd(1)-N(1): 2,063(2) Å], pelo ligante fosfínico monodentado [Pd(1)-P(8): 2,241(7) Å] e pelo ligante clorido [Pd(1)-Cl(24): 2,382(8) Å]. Estes dados confirmam os deslocamentos das bandas referentes aos estiramentos $\nu C=N$, νNO e $\nu P-C$ discutidos para os espectros de infravermelho tanto do dímero precursor quanto para o monômero.

A ligação Pd-Cl [2,382(8) Å] sendo a ligação coordenada mais longa na esfera de coordenação, evidencia o forte efeito *trans* direcionador do carbono ortometalado, cuja força de ligação é demonstrada pelo menor comprimento de ligação em torno do centro metálico [2,00(3) Å]. Além do efeito *trans* induzido pelo carbono ortometalado, o enfraquecimento da ligação Pd-Cl pode estar relacionado a propriedade ácido/base de moleza e dureza. Segundo a teoria ácido/base de Pearson, bases moles ligam-se mais fortemente a ácidos moles e bases duras a ácidos duros [181]. Nesta classificação, o ligante clorido representa um sítio básico duro, enquanto o íon Pd^{II} é um ácido mole, o que culmina em uma ligação menos intensa entre estas espécies e, por consequência, uma ligação mais longa. Este alongamento aproxima o ligante

clorido do átomo de hidrogênio do fragmento oxima do ligante tetrox, formando uma ligação de hidrogênio clássica intramolecular [O-H...Cl (2,35 Å)] (vide **Figura 43**).

O comprimento de ligação Pd-C_{sp}² [2,00(3) Å] apresenta-se menor do que a soma dos raios covalentes dos átomos envolvidos [2,081 Å]. Esta condição é característica para compostos ortometalados já reportados na literatura, como o trabalho de Bozza, *et al*, 2020 com comprimento Pd-C_{sp}² de 2,011 Å para o monômero [PdCl(C²,N-afox)P(PhF)₃] e o trabalho de Selvakumar, K.; Vancheesan, S e Varghese, 1997 com comprimento Pd- C_{sp}² de 2,027(3) Å para o composto [PdCl(C²,N-afox)PPh₃] [130,147]. O menor comprimento para a ligação Pd-C_{sp}² supõe a formação de uma ligação simples Pd-C com caráter de dupla ligação.

A ligação coordenada Pd-N, com comprimento de 2,063(2) Å, apresenta-se mais longa quando comparado a soma dos raios covalentes para os átomos envolvidos 2,01 Å [*r*_{cov} Pd = 1,31 Å, *r*_{cov} N_{sp}² = 0,70 Å]. Este efeito na ligação evidencia a influência *trans* direcionadora do átomo de fósforo já prevista pelo deslocamento sofrido pelas bandas νC=N e νNO no espectro de infravermelho. O alongamento desta ligação pode também estar relacionado as características de moleza e dureza do átomo de nitrogênio e do íon Pd^{II} [181]. Segundo a teoria ácido base de Pearson, o nitrogênio imínico é caracterizado como um sítio básico intermediário, enquanto que o Pd^{II} é um ácido mole, logo a ligação entre estes átomos será menos intensa e essa, conseqüentemente, terá comprimento maior do que o previsto.

A ligação Pd-P, com comprimento de 2,24(7) Å apresenta-se menor do que o comprimento previsto para esta ligação [2,41 Å]. Este comportamento é também observado para outros compostos ortometalados onde a ligação Pd-P encontra-se em posição *trans* ao nitrogênio imínico [130,182]. O menor comprimento demonstra a força da interação entre os átomos que pode ser explicada pela combinação de dois fatores; as propriedades de maciez e dureza e o efeito de retrodoação na ligação coordenada.

Segundo a teoria ácido/base de Pearson, o fósforo representa um sítio básico mole, logo sua ligação com o íon Pd^{II} (ácido mole) será forte [181]. Além

disso, o átomo doador de fósforo em ligantes fosfínicos apresenta orbitais $3d$ disponíveis de energia e simetria adequadas para receber densidade eletrônica dos orbitais d semipreenchidos do centro metálico, propiciando uma interação do tipo π , caracterizando o efeito de retrodoação que fortalece a ligação coordenada formada. A retrodoação pode também ocorrer através dos orbitais disponíveis sigma antiligante σ^* oriundos das ligações Pd-C $_{sp^2}$ [183]. Neste caso, o efeito desativante propiciado pelos substituintes flúor na posição *para* nos anéis fenila contribuem com a retrodoação [184].

A presença do ligante fosfínico volumoso (ângulo de Tolman: 102,48°) causa pronunciadas distorções na estrutura quadrática-plana. As ligações em posição *cis* ao átomo de fósforo coordenado apresentam ângulos de torção maiores do que 90° [ângulos de torção para as ligações C(27)-Pd(1)-P(8) e P(8)-Pd(1)-Cl(24) de 95,57(9)° e 96,95(3)°, respectivamente]. Estas distorções são compensadas pela diminuição dos ângulos de torção das demais ligações na esfera de coordenação, N(1)-Pd(1)-Cl(24) e C(27)-Pd(1)-N(1) com ângulos de 87,35(8)° e 80,21(12)°. As diferentes forças das ligações coordenadas e a presença do ligante fosfínico volumoso na estrutura do complexo pode ser a justificativa para a distorção da geometria quadrática plana. Este comportamento é observado em outros complexos de Pd^{II} contendo ligantes fosfínicos [130,147,185].

O arcabouço supramolecular do composto **JC3** foi analisado com base nos contatos próximos evidenciados pelo cálculo da Superfície de Hirshfeld (HS). A natureza das interações intermoleculares bem como a força destas interações influencia a forma e as características da superfície, tornando a análise dessa uma ferramenta na elucidação supramolecular [137,186]. A HS foi analisada pela representação gráfica 3D das distâncias dos contatos normalizadas (d_{norm}) e pelos gráficos de impressão digital 2D (**Tabela 11** e **Anexo 12**). A superfície d_{norm} , representada na **Figura 44**, identificou simultaneamente as regiões de grupos doadores e receptores envolvidos nas interações intermoleculares. Os contatos cujos comprimentos apresentaram-se menores do que a soma dos raios de van de Waals dos átomos envolvidos foram destacados em vermelho

na HS, enquanto os contatos com distâncias mais longas foram identificados como regiões azuis e brancas.

Figura 44: Superfície d_{norm} ao redor da unidade assimétrica do composto **JC3**. Os grupos envolvidos em interações intermoleculares mais fortes são representados nas regiões de coloração vermelha.

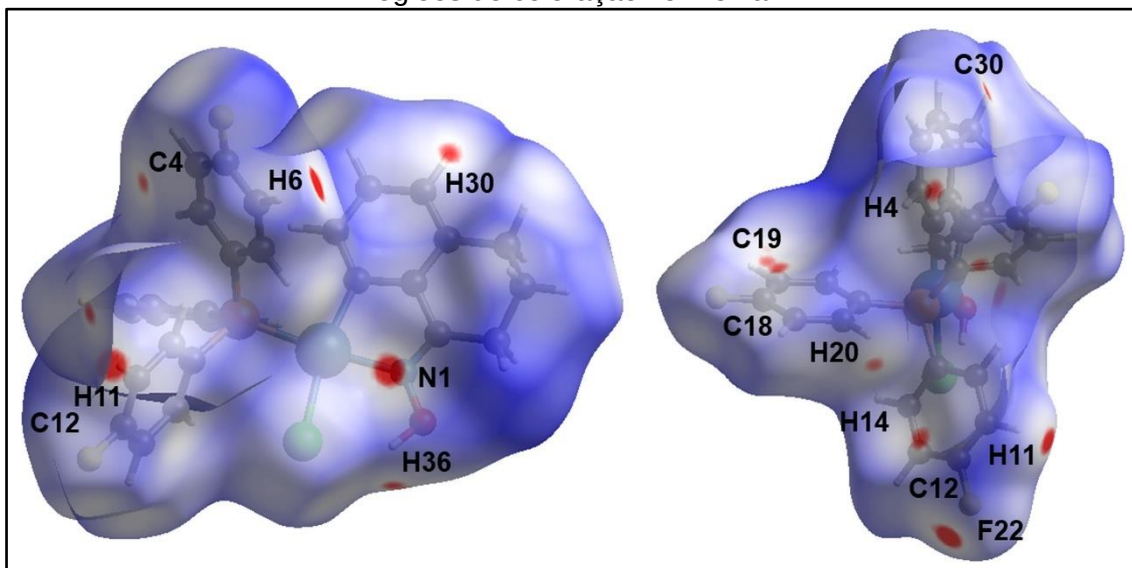


Tabela 11: Contribuições das interações intermoleculares pela análise dos gráficos 2D.

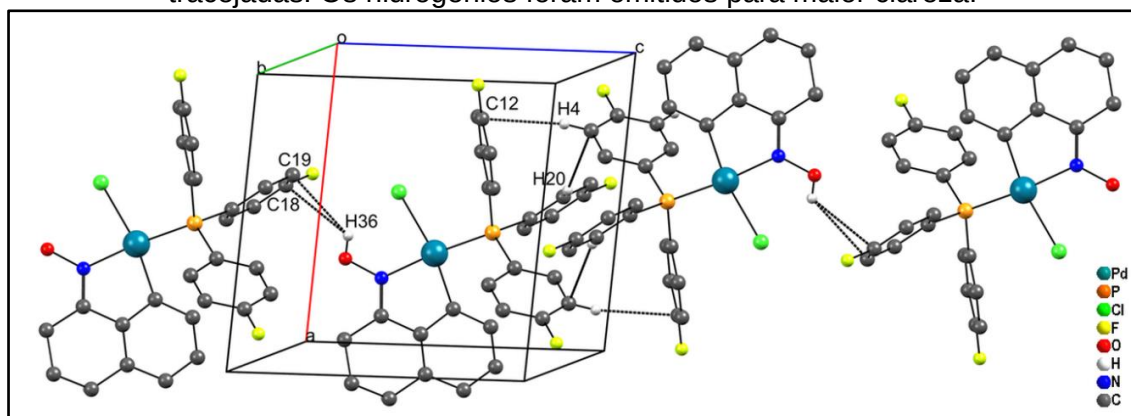
Contatos (%)								
H...C	H...N	H...H	H...O	H...F	H...Cl	H...Pd	C...O	C...F
12,4	1,3	34,9	1,4	11,2	3,3	0,7	0,6	1,3

Analisando qualitativamente o mapeamento da superfície d_{norm} , e quantitativamente os gráficos impressão digital 2D identificou-se a predominância de interações de hidrogênio através dos contatos H...H, H...C e H...F. Os contatos de natureza fraca do tipo H...H e H...C apresentam-se como os de maior contribuição para o reconhecimento molecular, representando 47,3 % dos contatos que mantem o empacotamento cristalino. Essa condição foi igualmente reportada por Bozza, *et al*, 2020 para compostos ciclopaladados derivados de oxima [130]. Esse comportamento pode evidenciar a característica ácida dos orbitais do íon Pd^{II} que ocasiona a polarização das ligações C-H presentes nos ligantes coordenados. A polarização dessas ligações propicia a formação de ligações de hidrogênio não-clássicas, onde o carbono atua como espécie doadora de hidrogênio. Ainda a ativação de ligações C-H apresenta-se

como uma propriedade já considerada na aplicação de ciclopaladados como intermediários catalíticos ou pré-catalisadores, até mesmo na formação do próprio composto ciclopaladado [187–189].

Tendo por base a análise quantitativa quanto as interações, caracterizou-se, pela análise de HS da molécula cristalograficamente independente (*vide* **Figura 44**), as ligações intermoleculares elucidando a estrutura supramolecular. Assim, no empacotamento cristalino as moléculas primariamente estão conectadas por ligações de hidrogênio bifurcadas não clássicas do tipo O-H...C, envolvendo os átomos O36-H36...C18 e O36-H36...C19 (*vide* **Anexo 13**). Adicionalmente a essas ligações, os anéis aromáticos do ligante fosfínico de uma molécula interagem via ligações do tipo C-H...C ao sistema fosfínico de uma molécula vizinha. Essas interações envolvem os átomos C4-H4...C12 e C20-H20...C4, cujo arranjo originam dímeros de ligações de hidrogênio simetricamente relacionados aos padrões $R_2^2(8)$ e $R_2^2(14)$ (*vide* **Anexo 14**). As interações descritas caracterizam a formação de um polímero unidimensional de ligações de hidrogênio ao longo da direção [001], conforme representado na **Figura 45**.

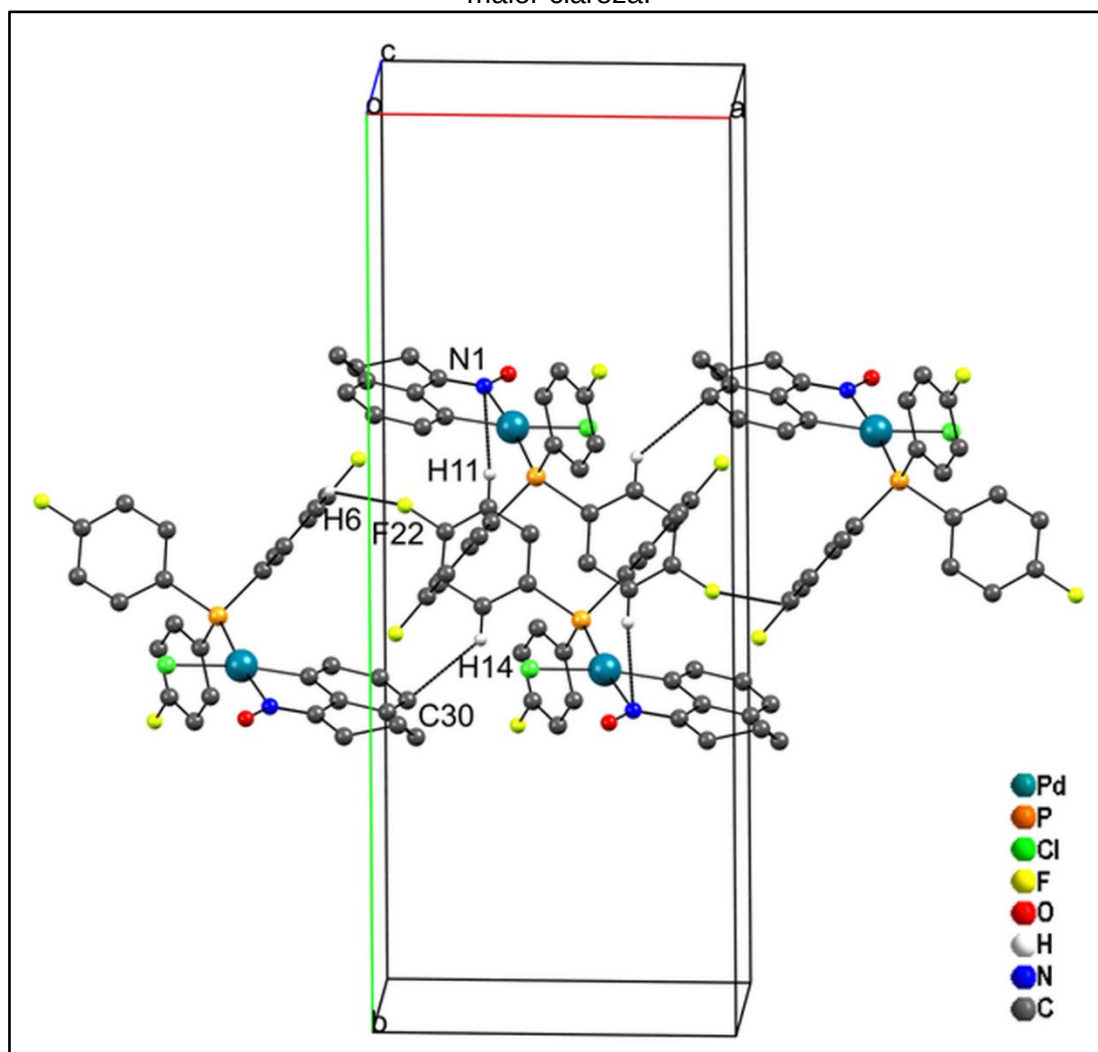
Figura 45: Vista parcial da estrutura cristalina do composto **JC3** formando um polímero de ligações de hidrogênio 1D ao longo do eixo cristalográfico *c* pelas interações do tipo O-H...C (código de simetria: *x. y. -1+z*) e C-H...C (código de simetria: *1-x. 1-y. 2-z*). As ligações de hidrogênios estão representadas por linhas tracejadas. Os hidrogênios foram omitidos para maior clareza.



Os polímeros unidimensionais de ligações de hidrogênio, dispostos ao longo do eixo cristalográfico *c* (**Figura 45**), conectam-se através de ligações de hidrogênio não clássicas do tipo CH...F e CH...C ao longo do eixo cristalográfico

b. Essas interações envolvem os átomos C14-H14...C30 e C6-H6...F22 pertencente o fragmento ciclohexano do ligante oxima e aos anéis aromáticos do ligante fosfínico (*vide Anexo 15*). Adicionalmente, o nitrogênio imínico do ligante oxima forma uma ligação do hidrogênio não clássica do tipo C-H...N, com um dos anéis aromáticos do ligante fosfínico de uma molécula vizinha. Essa interação forma anéis com padrão $R_2^2(14)$ ao longo do eixo cristalográfico *a* (*vide Anexo 16*). As três ligações de hidrogênio descritas para o eixo cristalográfico *b* são apresentadas na **Figura 46**.

Figura 46: Vista parcial na direção [100] da estrutura do composto **JC3** evidenciando as ligações do tipo CH...C (código de simetria: $-1+x, y, z$), CH...F (código de simetria: $-1+x, y, z$) e CH...N (código de simetria: $1-x, 1-y, 1-z$). As ligações de hidrogênio são representadas por linhas tracejadas e os átomos de hidrogênios foram omitidos para maior clareza.



As informações acerca das interações identificadas e descritas são apresentados na **Tabela 12**.

Tabela 12: Dados referentes as ligações de hidrogênios identificadas na estrutura cristalina do composto **JC3**.

D-H...A	Código de simetria	d(D-H), Å	d(H...A), Å	d(D...A), Å	<DHA, °
O36-H36...C18	x. y. -1+z	0.820	2.777	3.197	113.74
O36-H36...C19	x. y. -1+z	0.820	2.802	3.408	132.30
C4-H4...C12	1-x. 1-y. 2-z	0.830	2.828	3.721	161.18
C20-H20...C4	1-x. 1-y. 2-z	0.830	2.826	3.636	146.36
C6-H6...F22	-1+x. y. z	0.830	2.442	3.138	131.64
C14-H14...C30	-1+x. y. z	0.830	2.794	3.500	133.58
C11-H11...N1	1-x. 1-y. 1-z	0.830	2.630	3.534	164.25

Devido ao arranjo espacial das moléculas nas interações ao longo do eixo cristalográfico *b*, em adição as interações descritas para o eixo cristalográfico *c*, ocorre uma expansão do empacotamento cristalino para uma rede supramolecular tridimensional. Os grupos envolvidos nas interações intermoleculares observadas coincidem com os átomos identificados como importantes para o reconhecimento molecular elucidados pelas regiões em vermelho da HS (*vide* **Figura 44**); os átomos C4, H11, C12, C30, H4, C19, C18, H20, H14, C12, H20, H14, C12, F22, H11 do ligante fosfínico e os átomos N1 e H30 do ligante oxima.

6.2 Síntese e caracterização da família de compostos de fórmula geral [PdCl(L1)PR₃]Cl

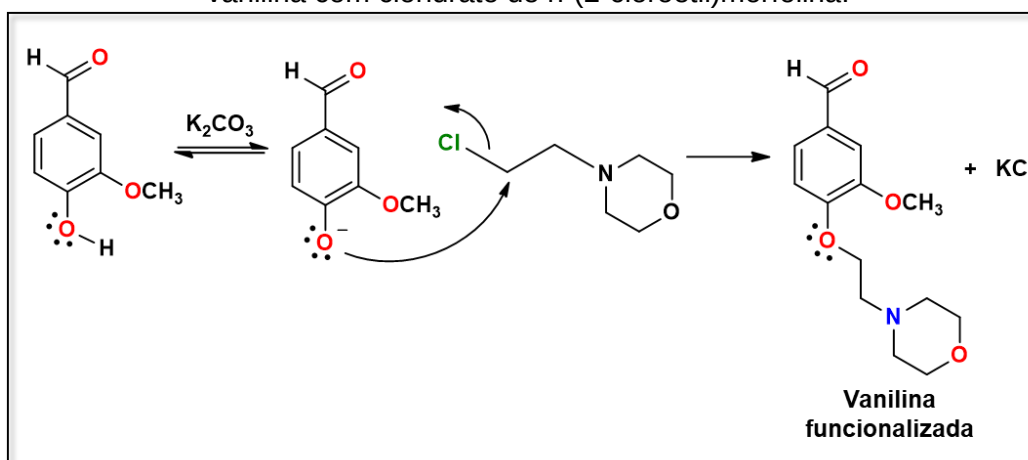
A funcionalização de moléculas orgânicas aplicadas como ligantes, mostra-se como uma estratégia dentro do design de novos complexos na química inorgânica medicinal. Essa estratégia pode ser utilizada para o aprimoramento de propriedades físicas e químicas dos posteriores complexos formados, como por exemplo o aumento da solubilidade em água, ou ainda a inserção de grupos direcionadores visando um alvo biológico específico.

Ao se analisar os substituintes inerentes a vanilina, pode-se identificar possíveis sítios reativos na molécula, tais como a carbonila da função aldeído e o grupo hidroxila da função fenólica. Em específico, o grupo OH fenólico

apresenta um hidrogênio ácido ($pK_a \sim 10$) passível de ser substituído por um grupo de interesse via reação de substituição nucleofílica. Essas reações são consolidadas dentro da síntese orgânica, onde um haleto de alquila pode ter o halogênio substituído por um grupo nucleofílico em função da polaridade da ligação C-halogênio. Dessa forma, nucleófilos aniônicos, como a vanilina desprotonada por uma base, podem ser funcionalizados via reação de substituição [184]. Dentro disso, essa estratégia sintética foi utilizada na composição do ligante **L1**, com o objetivo de inserir o grupo morfolina que, pela possibilidade de protonação do nitrogênio, melhora a solubilidade em água do ligante.

Assim, no **Esquema 14** é apresentada uma adaptação de mecanismo para a funcionalização da vanilina, baseada no mecanismo geral para uma reação de substituição do tipo S_N2 . A reação inicia pela desprotonação do grupo OH fenólico pela base (K_2CO_3), dando origem ao nucleófilo aniônico que substitui o átomo de cloro na n-(2-cloroetil)morfolina.

Esquema 14: Mecanismo de substituição S_N2 adaptado para a funcionalização da vanilina com cloridrato de n-(2-cloroetil)morfolina.

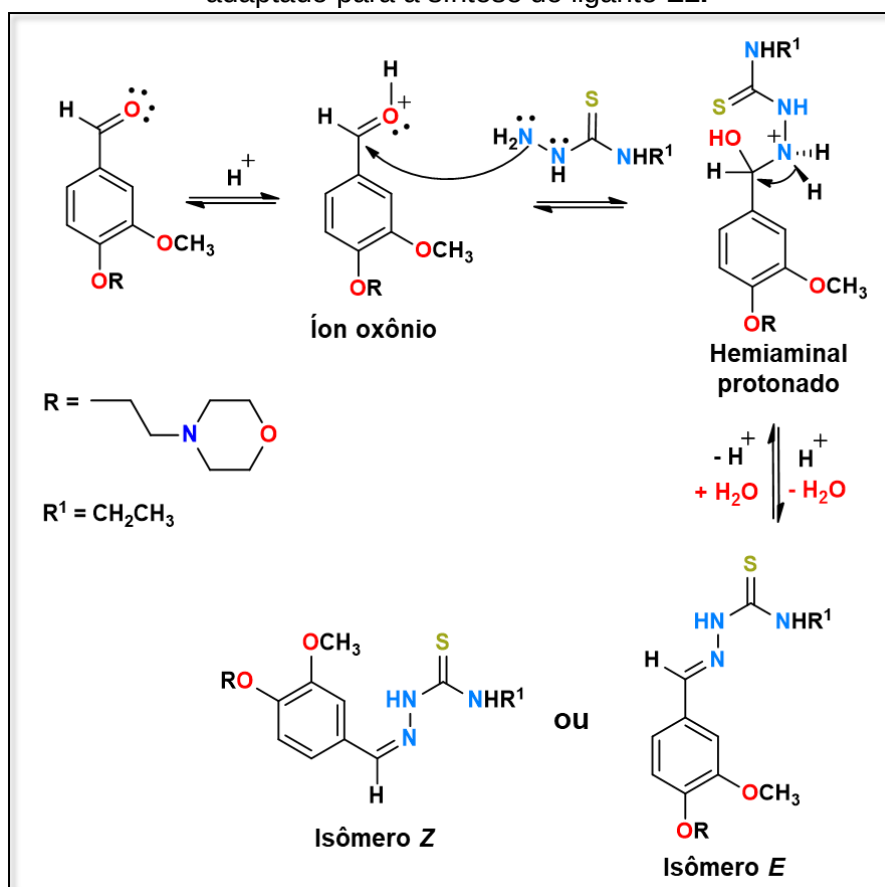


Ligantes derivados de tiossemicarbazonas, por pertencerem a classe das iminas, podem ser obtidos via reações de condensação em meio alcóolico [75]. Esse método de obtenção destaca-se por ser de baixo custo e contemplar aspectos inerentes a química verde, como economia de átomos e a minimização na formação de subprodutos, o que atribuem altos rendimentos a esse tipo de

reação [185,190]. À vista disso, esse apresenta-se como o método amplamente empregado na obtenção de ligantes tiossemicarbazonas [191,192].

Dessa forma, a reação de condensação em meio alcóolico foi utilizada na síntese do ligante vanilina-etiltiossemicarbazona (**L1**), a qual apresenta um mecanismo proposto reportado na literatura [75,193]. Baseado no mecanismo geral reportado, no **Esquema 15** é apresentada uma adaptação do mecanismo de reação para a síntese do **L1**. Segundo este mecanismo, a reação se inicia pela protonação da carbonila aldólica e ativação da carbonila pela formação do íon oxônio. Em sequência, ocorre o ataque nucleofílico do nitrogênio terminal da tiossemicarbazida ao carbono carbonílico da vanilina, formando o intermediário hemiaminal protonado. Esse intermediário é rearranjado, formando a ligação C=N, que caracteriza o composto base de Schiff, e liberando uma molécula de água [75,193]. Ao final da reação fica evidente a adequação do aspecto da química verde de minimização na geração de subprodutos, uma vez que, com exceção da molécula de água que é liberada, não se observa a formação de subprodutos. Além disso, o composto tiossemicarbazona pode ser obtido em duas formas isoméricas (*E* e *Z*) que se diferenciam pelo posicionamento do grupo mais volumoso com relação a ligação C=N.

Esquema 15: Mecanismo de reação geral para a obtenção de tiossemicarbazonas adaptado para a síntese do ligante **L1**.



Fonte: Adaptado de Tenório, 2005 [75].

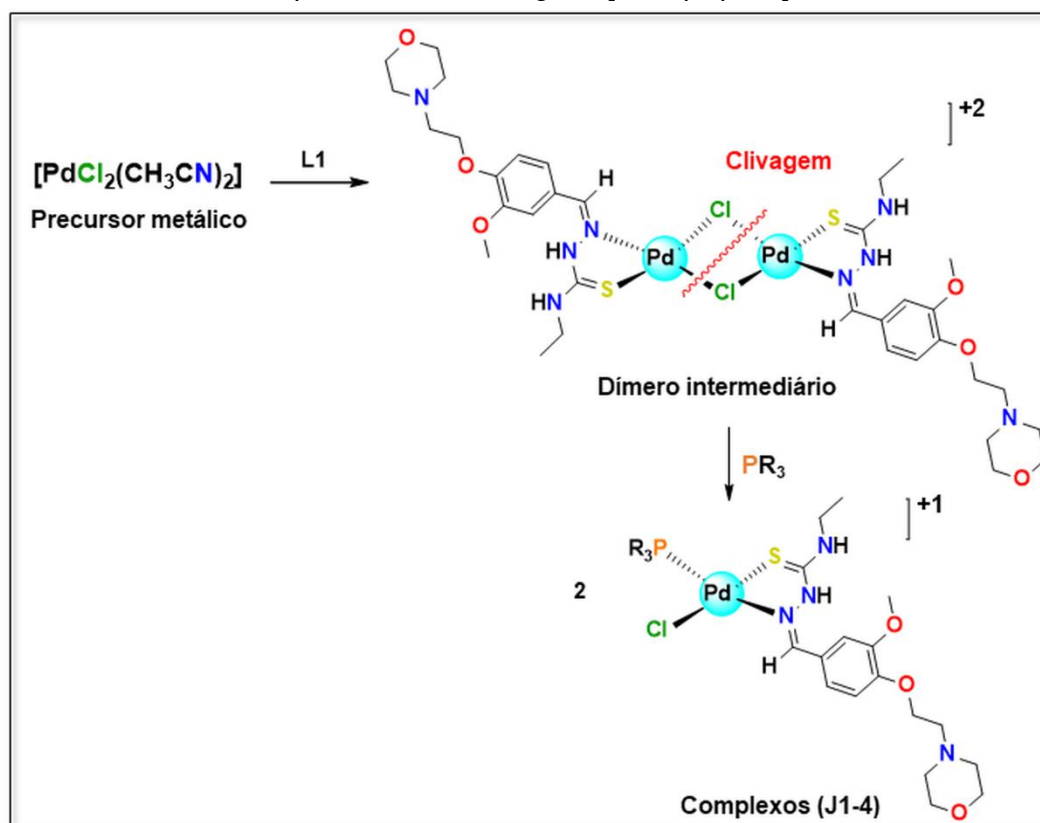
Desta forma, a metodologia de síntese empregada para a obtenção do ligante **L1** envolveu duas etapas: a funcionalização da porção vanilina via reação de substituição e a adição seguida de condensação para inserção do fragmento tiossemicarbazona. Para a primeira etapa, após 72 h de reação e sucessivas extrações, foi isolado um sólido de coloração amarela, com rendimento de 64 % (4,000 g). Este sólido apresentou-se parcialmente solúvel em etanol e, após seco e analisado por espectroscopia na região do infravermelho, foi submetido a segunda etapa de síntese do ligante **L1**.

Para a inserção do grupo tiossemicarbazida, após 6 h de reação, foi isolado um sólido amarelo claro. Este sólido, após seco à vácuo, apresentou um rendimento de 60 % (415 mg) e solubilidade em água, um indicativo de que o ligante foi obtido na forma de cloridrato. SILVA, D. E; *et al*, 2020, obteve um rendimento de 72 % para o ligante vanilina-morfolina-tiossemicarbazona (**L1**), utilizando como solvente para a reação uma mistura etanol/água. É válido

destacar que, no trabalho citado, o ligante tiossemicarbazona não foi obtido na forma cloridratada. A provável obtenção do ligante **L1** na forma de cloridrato mais solúvel pode ter sido um dos fatores para a diferença observada no rendimento, em comparação ao reportado na literatura. Apesar da diferença observada, o rendimento obtido para a reação foi considerado adequado uma vez que está dentro do intervalo de rendimentos apresentados na literatura para outros ligantes tiossemicarbazonas (entre aproximadamente 45 – 80%) [194–196].

Os complexos de Pd^{II} derivados do ligante **L1** foram obtidos por uma reação em duas etapas, partindo-se de um precursor metálico de acetonitrila ([PdCl₂(CH₃CN)₂]). Na primeira etapa de 24 h de reação, reagiu-se o ligante **L1** com o precursor [PdCl₂(CH₃CN)]₂, propondo a possível formação de uma forma dimérica intermediária, onde o ligante tiossemicarbazona substituí as moléculas de acetonitrila, mantendo os ligantes clorido em ponte. *In situ*, a segunda etapa da reação se iniciou pela adição do respectivo ligante fosfínico (trifenilfosfina; tri(*p*-toluil)fosfina; tris(4-fluoro-fenil)fosfina; tris(4-metóxifenil)fosfina), que, considerando a existência de um dímero intermediário resultante da primeira etapa, cliva uma das ligações Pd-Cl pela coordenação do átomo de fósforo, dando origem aos complexos, conforme é ilustrado no **Esquema 16** abaixo.

Esquema 16: Mecanismo de reação proposto para a reação de síntese dos complexos de fórmula geral $[\text{PdCl}(\text{L1})\text{PR}_3]\text{Cl}$.



Os complexos foram obtidos com altos rendimentos, entre 67 e 90 %. Na **Tabela 13** são apresentadas o aspecto físico e os rendimentos associados a cada um dos complexos. Assim como foi observado para os monômeros da família de ciclopaladados, o complexo **J2**, que apresenta a tri(*p*-toluil)fosfina, foi obtido em menor rendimento (67 %) em comparação aos demais complexos da família. Da mesma forma, esse comportamento pode estar associado ao aumento do ângulo de cone da fosfina terciária volumosa, o que tornaria o átomo de fósforo menos disponível para a coordenação ao centro metálico, resultando em um menor rendimento [151]. Essa justificativa é corroborada pelo maior rendimento apresentado na obtenção do complexo **J1** (90 %), o qual utilizou-se a trifenilfosfina sem substituição.

Tabela 13: Dados físicos e rendimentos dos compostos obtidos na família de compostos de fórmula geral $[\text{PdCl}(\text{L1})\text{PR}_3]\text{Cl}$

	Composto	Coloração do sólido	Rendimento % (mg)
L1	$\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{ClN}_4\text{O}_3\text{S}$	Amarelo	60 (415)
J1	$[\text{PdCl}(\text{L1})\text{PPh}_3]\text{Cl}$	Amarelo	90 (133)
J2	$[\text{PdCl}(\text{L1})\text{P}(\text{PhCH}_3)_3]\text{Cl}$	Laranja	67 (105)
J3	$[\text{PdCl}(\text{L1})\text{P}(\text{PhF})_3]\text{Cl}$	Amarelo	73 (116)
J4	$[\text{PdCl}(\text{L1})\text{P}(\text{PhOCH}_3)_3]\text{Cl}$	Laranja	89 (147)

Na **Tabela 14** são apresentados os dados de análise elementar obtidos para o ligante **L1** e para os respectivos complexos. Considerando a proximidade dos teores experimentais e calculados (diferenças menores do que 1 %) para o ligante **L1**, esse resultado corrobora com os valores calculados sob a proposta de obtenção da forma cloridrato. Ainda o comportamento dos dados apresentou-se semelhante ao reportado para o ligante vanilina-morfolina-tiossemicarbazona, o qual igualmente as diferenças entre os valores calculados e experimentais não ultrapassaram 1 % (45,87 (45,90) %C; 6,88 (7,19) %H; 14,17 (14,28) %N) [53].

Com relação aos teores de CNH obtidos para os complexos derivados do ligante **L1**, observa-se uma aproximação dos valores calculados, em que as diferenças não ultrapassaram 1%. A adequação dos valores experimentais a fórmulas mínimas hidratadas dos complexos demonstra que possivelmente os compostos foram obtidos como sais tri-hidratados. A aproximação dos valores calculados e experimentais está de acordo com o obtido para complexos semelhantes reportados na literatura [185].

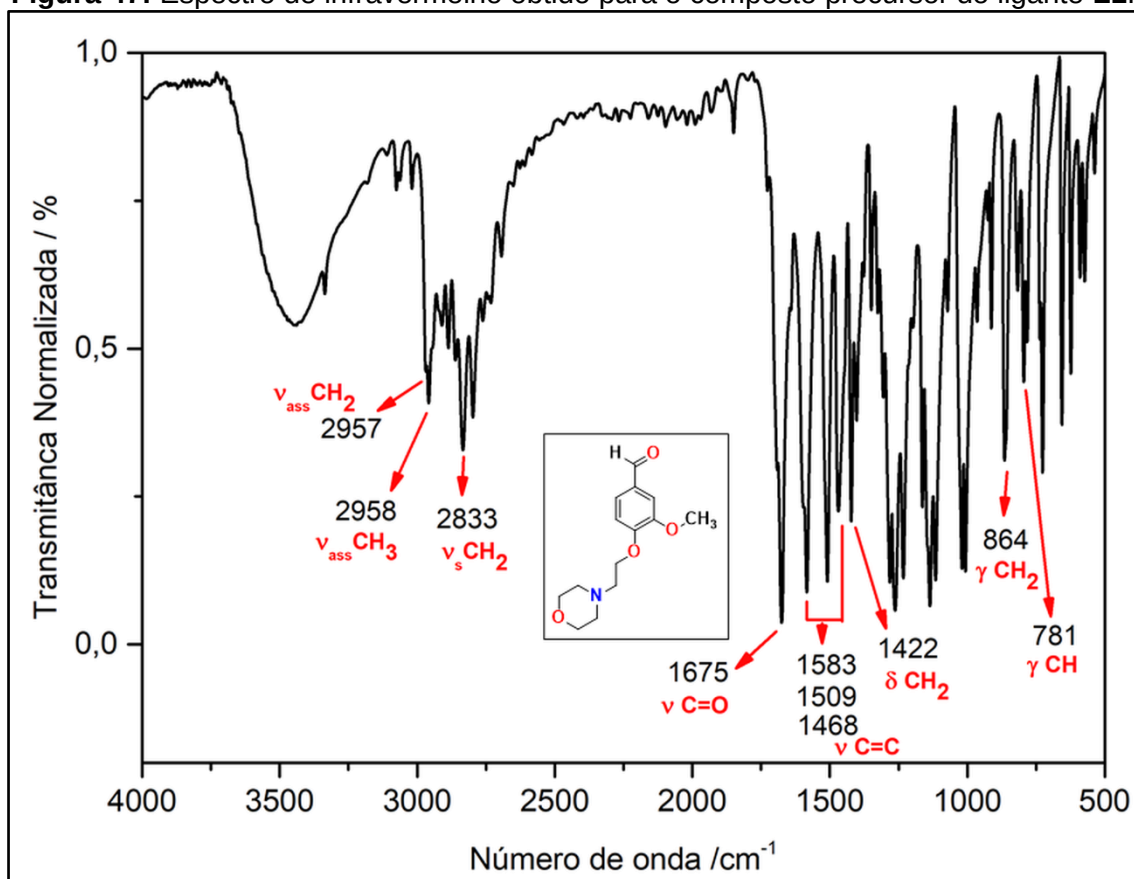
Tabela 14: Dados de análise elementar (CHN) para os compostos da família de fórmula geral $[\text{PdCl}(\text{L1})\text{PR}_3]\text{Cl}$.

	Fórmula	%C exp (calc)	%N exp (calc)	%H exp (calc)
L1	$\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{ClN}_4\text{O}_3\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$	48,54 (48,50)	12,49 (13,31)	6,94 (6,94)
J1	$\text{C}_{35}\text{H}_{41}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_3\text{PPdS} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	49,16 (48,87)	5,58 (6,51)	5,28 (5,51)
J2	$\text{C}_{38}\text{H}_{47}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_3\text{PPdS} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	50,50 (50,59)	5,60 (6,21)	5,57 (5,92)
J3	$\text{C}_{35}\text{H}_{38}\text{Cl}_2\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_3\text{PPdS} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	45,89 (45,99)	5,42 (6,13)	4,26 (4,85)
J4	$\text{C}_{38}\text{H}_{47}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_6\text{PPdS} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	48,03 (48,03)	5,42 (6,13)	5,30 (5,62)

6.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho (IV) para a família de compostos de fórmula geral $[PdCl(L1)PR_3]Cl$

Assim como para a série de compostos ciclopaladados, a técnica de espectroscopia na região do infravermelho foi utilizada em uma análise preliminar no estado sólido tanto do ligante **L1**, quanto dos complexos derivados. Tendo em vista a metodologia sintética proposta em duas etapas para a obtenção do ligante **L1**, foi adquirido primeiramente o espectro do composto precursor proveniente da reação de substituição para a funcionalização da vanilina com o grupo morfolina. O espectro mencionado é apresentado na **Figura 47**.

Figura 47: Espectro de infravermelho obtido para o composto precursor do ligante **L1**.



A primeira etapa para a síntese do ligante **L1** consistiu na adição do grupo morfolina à vanilina. Esse fragmento se caracteriza por apresentar grupos metileno. Neste sentido, no espectro do composto precursor são observadas bandas de média intensidade na região de 2958 a 2833 cm^{-1} , que se referem

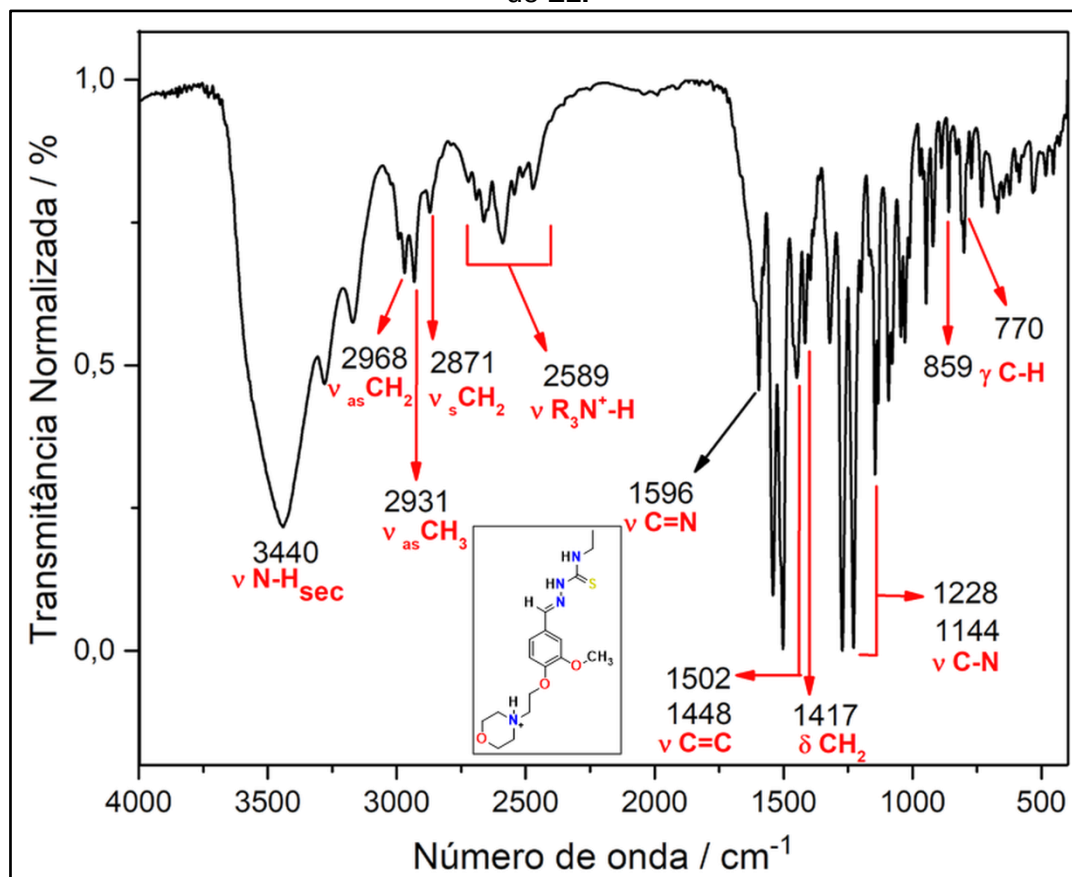
aos estiramentos simétricos e assimétrico dos grupos CH₂ e CH₃ [152,197]. A identificação de bandas características a estes grupos indica a provável inserção do grupo morfolina pela reação de substituição nucleofílica promovida.

Observa-se uma banda de forte intensidade na região de 1675 cm⁻¹, característica do estiramento da ligação C=O [197]. A presença desta banda demonstra a inalteração da carbonila aldoolica na reação de substituição, o que é de suma relevância tendo em vista que este representa o sítio de reação na etapa sintética posterior para a síntese de **L1**.

Tendo por base a estrutura proposta para **L1**, na caracterização das ligações C=C de sistemas aromáticos, são esperadas quatro bandas nas regiões de 1625-1590 cm⁻¹, 1525-1470 cm⁻¹ e 1465-1430 cm⁻¹ [197]. No espectro do composto precursor são observadas três bandas de forte intensidade em 1583 cm⁻¹, 1509 cm⁻¹ e 1468 cm⁻¹ que se referem ao modo vibracional ν C=C do anel aromático da porção vanilina. Ainda na caracterização deste fragmento, são observadas duas bandas de média e baixa intensidade em 864 cm⁻¹ e 781 cm⁻¹ relacionadas a deformação angular fora do plano da ligação C-H de um sistema aromático 1,2,4-trissubstituído [197].

A caracterização das bandas referentes aos estiramentos das ligações C=C, C=O e C-H no espectro de infravermelho do precursor, serviram como suporte comparativo para a análise do produto da segunda etapa da síntese de **L1**. Desta forma, na **Figura 48** é apresentado o espectro de infravermelho obtido para o produto da segunda etapa de reação para a síntese de **L1**.

Figura 48: Espectro de infravermelho obtido para o produto final da reação de síntese de **L1**.



Conforme a reação utilizada para a inserção da porção tiossemicarbazona, tem-se a conversão da carbonila aldólica da vanilina em um grupo C=N [75]. Essa conversão pode ser evidenciada pela comparação entre as bandas na região entre 1550 e 1700 cm⁻¹ nos espectros do precursor e no espectro obtido para o produto da segunda etapa. Comparando o espectro do precursor com o espectro de **L1**, observou-se o desaparecimento da banda na região de 1675 cm⁻¹, relacionada ao estiramento da ligação C=O e o aparecimento de uma banda em 1596 cm⁻¹, referente ao estiramento da ligação C=N. O número de onda para o estiramento do grupo C=N tiossemicarbazona apresenta-se próximo ao reportado por Sibuh, *et al* para os compostos tiossemicarbazonas derivados de hidroxibenzaldeído (1619 cm⁻¹, [198]), e, também, próximo ao apresentado por Silva, *et al* para o composto 2-formilpiridina-tiossemicarbazona (1600 cm⁻¹, [53]). Essa condição é um indicativo da obtenção do ligante **L1**.

O fragmento tiossemicarbazona apresenta duas aminas secundárias, as quais fazem parte da porção tioamida. O estiramento da ligação N-H destas aminas origina bandas em duas regiões distintas, entre 3450 e 3210 cm^{-1} e entre 3180 e 3150 cm^{-1} . A primeira região se refere ao estiramento da ligação N-H da amina terminal da porção tiossemicarbazona, enquanto a segunda região mencionada refere-se ao grupo NH hidrazínico [199]. Desta maneira, no espectro de **L1** é observada uma banda alargada na região de 3441 cm^{-1} que, por essa característica, pode representar uma sobreposição das bandas referentes aos dois estiramentos N-H da porção tiossemicarbazona. Ainda são observadas duas bandas de alta e média intensidade na região de 1228-1114 cm^{-1} , relacionadas ao estiramento da ligação C-N. A caracterização das bandas destes estiramentos indica a inalteração da porção tioamida do grupo tiossemicarbazona na estrutura de **L1**.

Além da região para estiramentos de ligação N-H de aminas secundárias, se observa no espectro de **L1**, um conjunto de bandas de baixa intensidade na região de 2589 cm^{-1} , que podem ser atribuídas ao estiramento da ligação $\text{R}_3\text{N}^+\text{-H}$ [197]. Tendo em vista a estrutura proposta para o ligante, sabe-se que o anel heterociclo do grupo morfolina pode ter o nitrogênio da amina terciária protonado em meio ácido, o que contribui para a solubilidade do composto em água [200]. Dessa forma, é justificado o aparecimento do conjunto de bandas na região de 2589 cm^{-1} que pode servir como um indicativo da obtenção de **L1** na forma cloridrato, concordando ainda com a fórmula mínima proposta pelos resultados da análise elementar.

Quanto aos grupos alifáticos, as bandas para os estiramentos νCH_2 e νCH_3 , em comparação ao espectro do composto precursor, se mantiveram inalteradas. Ainda são observadas duas bandas de forte e fraca intensidade em 1502 e 1448 cm^{-1} , referentes aos estiramentos das ligações C=C do sistema aromático da porção vanilina [197]. Adicionalmente, duas bandas de fraca intensidade nas regiões de 859 e 770 cm^{-1} podem ser atribuídas a deformação angular fora do plano da ligação C-H do sistema aromático 1,2,4-trissubstituído [197].

A caracterização das bandas referentes aos estiramentos das ligações C=N e C=S, em específico, são de fundamental importância para a análise dos espectros obtidos para os complexos metálicos, uma vez que **L1**, por ser um ligante tiossemicarbazona, pode atuar como um ligante bidentado N,S-doador [54,201]. Dessa forma, a coordenação do ligante ao centro metálico por esses sítios altera o momento de dipolo das ligações que envolvem estes átomos, provocando o deslocamento das respectivas bandas, o que pode servir como um indicativo da formação dos complexos. Além disso, os grupos funcionais próximos ao núcleo coordenante podem sofrer perturbações que irão se refletir em deslocamentos das bandas características.

Assim, na **Figura 49** são apresentados os espectros de infravermelho obtidos para os complexos de fórmula geral $[\text{PdCl}(\text{L1})\text{PR}_3]\text{Cl}$, em que R = trifenilfosfina (**J1**), tri(*p*-toluil)fosfina (**J2**), tris(4-fluorofenil)fosfina (**J3**) e tris(4-metoxifenil)fosfina (**J4**), destacando as regiões referentes as principais bandas caracterizadas. Para melhor compreensão e discussão, na **Tabela 15** estão reunidos os principais dados obtidos pela análise dos espectros dos complexos de Pd^{II} em comparação ao ligante **L1** livre.

Figura 49: Espectros de infravermelho obtidos para os complexos de fórmula geral $[\text{PdCl}(\text{L1})\text{PR}_3]\text{Cl}$.

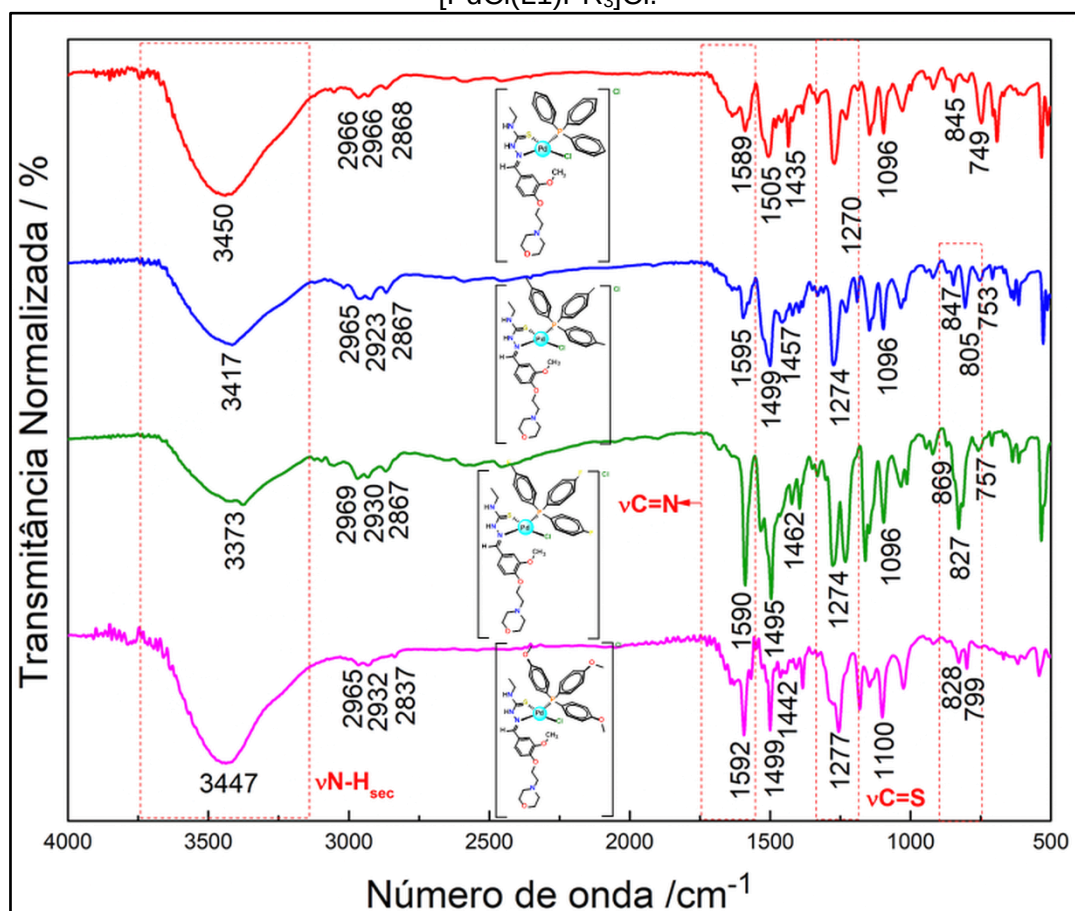


Tabela 15: Dados de espectroscopia na região do infravermelho obtidos para o ligante L1 e seus respectivos complexos (J1-J4).

Atribuição	cm ⁻¹				
	L1	J1	J2	J3	J4
ν N-H _{sec}	3440 <i>F</i>	3450 <i>F</i>	3417 <i>F</i>	3373 <i>m</i>	3447 <i>F</i>
ν_{as} CH ₂	2968 <i>f</i>	2966 <i>f</i>	2965 <i>f</i>	2969 <i>f</i>	2965 <i>f</i>
ν_{as} CH ₃	2931 <i>f</i>	2926 <i>f</i>	2923 <i>f</i>	2930 <i>f</i>	2932 <i>f</i>
ν_s CH ₂	2871 <i>f</i>	2868 <i>f</i>	2867 <i>f</i>	2867 <i>f</i>	2837 <i>f</i>
ν R ₃ N ⁺ -H	2589 <i>f</i>	*	*	*	*
ν C=N	1596 <i>m</i>	1589 <i>m</i>	1595 <i>m</i>	1590 <i>F</i>	1592 <i>m</i>
ν C=C	1502 <i>m</i>	1505 <i>m</i>	1499 <i>m</i>	1495 <i>m</i>	1499 <i>m</i>
	1448 <i>m</i>	1435 <i>m</i>	1457 <i>m</i>	1462 <i>m</i>	1442 <i>m</i>
ν C=S	859 <i>f</i>	845 <i>f</i>	847 <i>f</i>	827 <i>f</i>	828 <i>f</i>
δ CH ₂	1417 <i>f</i>	1420 <i>f</i>	1420 <i>f</i>	1422 <i>f</i>	1406 <i>f</i>
ν C-N	1228 <i>f</i>	1227 <i>f</i>	1226 <i>f</i>	1232 <i>f</i>	1255 <i>f</i>
	1144 <i>f</i>	1145 <i>f</i>	1145 <i>f</i>	1159 <i>f</i>	1445 <i>f</i>
γ C-H	770 <i>f</i>	749 <i>f</i>	753 <i>f</i>	757 <i>f</i>	**
ν (P-C _{ph})	**	1096	1096	1096	1100

Intensidade relativa das bandas: forte (*F*); fraca (*f*); média (*m*).

* = Banda não observada.

Conforme destacado nos espectros da **Figura 49** e nos dados da **Tabela 15**, foram observados deslocamentos nas bandas referentes as ligações N-H, C=N e C=S, quando comparados ao espectro do ligante livre. A banda característica do estiramento da ligação N-H sofreu um alargamento para todos os complexos, com deslocamentos que variaram de 10 a 67 cm⁻¹. A persistência desta banda nos espectros dos complexos pode indicar a coordenação do ligante **L1** na forma neutra, sem a desprotonação do grupo NH hidrazínico, dando origem a complexos catiônicos [202].

Com a coordenação do nitrogênio ao centro metálico, a densidade eletrônica da ligação C=N é direcionada ao nitrogênio causando um

alongamento desta ligação e, conseqüentemente, levando o estiramento para menores números de onda [199]. Este comportamento é comumente reportado para complexos derivados de tiossemicarbazonas, como no trabalho de Farias, R. L, *et al*, onde para dois complexos de Ni(II), com ligantes tiossemicarbazonas derivados de cinamaldeído foi observado um deslocamento negativo da banda $\nu_{C=N}$ de 14 e 45 cm^{-1} [54]. A banda referente ao estiramento da ligação C=N, para os quatro complexos, não sofreram deslocamentos significativos para menores números de onda, variando de 1 a 7 cm^{-1} . Considerando a faixa de erro do equipamento utilizado sendo de 2 cm^{-1} , para o complexo **J2** não se pode aferir a coordenação do nitrogênio azometínico ao centro metálico pela técnica de IV, sendo necessário para a caracterização desse composto resultados espectroscópicos complementares.

A banda referente ao grupo tioamida, $\nu_{C=S}$, é tipicamente deslocada para menores números de onda em complexos tiossemicarbazonas em comparação ao ligante livre [54,185,202]. Da mesma forma que ocorre na ligação C=N, a coordenação do átomo de enxofre faz com que o momento dipolar da ligação se modifique, deslocando a banda do estiramento para menores números de onda. Este comportamento foi observado para os complexos **J1-4**, onde os deslocamentos para menores números de onda, em comparação ao ligante **L1** ($\nu_{C=S}$ 859 cm^{-1}), foram de 827 cm^{-1} a 847 cm^{-1} . Essa condição pode indicar a coordenação do enxofre ao centro metálico [199].

Os sinais característicos na região de 2589 cm^{-1} caracterizados no espectro do ligante **L1** livre, atribuído ao grupo R_3N^+-H , o que pode indicar a obtenção do ligante na forma de cloridrato, não são observados nos espectros dos complexos [197]. Essa evidência sugere a desprotonação da fração morfolina na formação dos complexos. Partindo-se da premissa de que a solubilidade em água apresentada pelo ligante **L1** está relacionada ao equilíbrio estabelecido pelo cloridrato na porção morfolina, essa condição dos complexos pode justificar a baixa solubilidade em água apresentada pelos complexos derivados de **L1**.

A presença dos ligantes fosfínicos nas esferas de coordenação podem ser indicadas pelo aparecimento de uma banda na região de 1098 a 1095 cm^{-1}

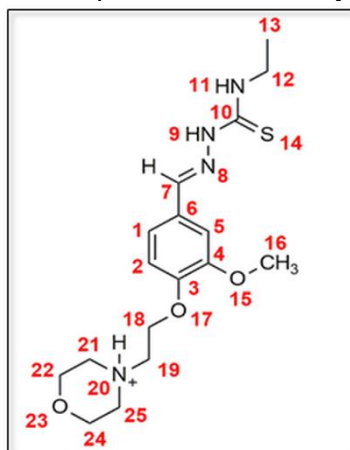
[199]. Nos espectros dos complexos **J1-4** foram observadas bandas nas regiões 1096 cm^{-1} e 1100 cm^{-1} , referentes ao estiramento da ligação P-C_{ph}. Os valores observados estão de acordo com complexos derivados de tiossemicarbazonas reportados na literatura [202–204]. A caracterização destas bandas pode indicar a coordenação efetiva dos respectivos ligantes fosfínicos ao centro metálico.

6.2.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear para a família de compostos de fórmula geral [PdCl(L1)PR₃]Cl

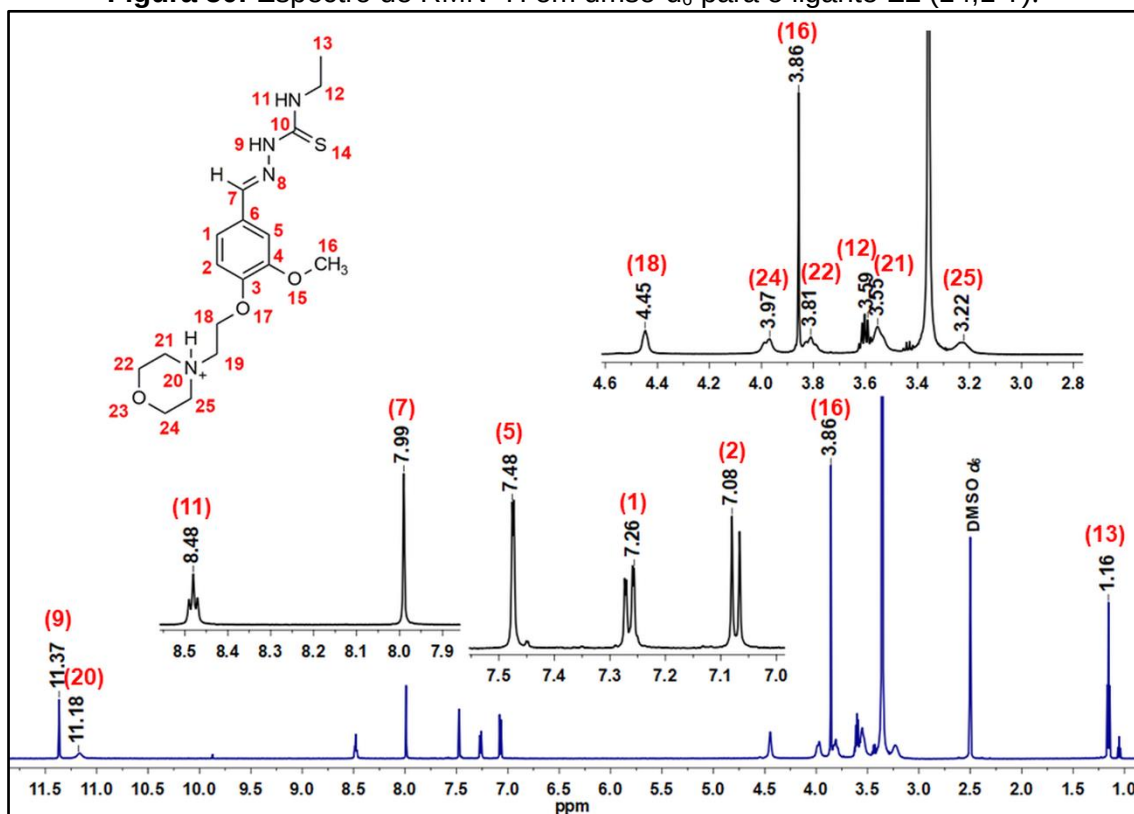
A caracterização dos átomos de hidrogênio e carbono, tanto para o ligante (molécula orgânica), quanto para os complexos pode trazer informações estruturais determinantes, especialmente no que se refere ao comportamento em solução. Neste contexto, a técnica de ressonância magnética nuclear representa um meio de caracterização conclusivo para compostos orgânicos [152].

Desta forma, foi realizada primeiramente a elucidação da estrutura do ligante para, em sequência, serem caracterizados os complexos de Pd^{II} derivados. Para comprovação da obtenção do ligante **L1** foram obtidos espectros de RMN unidimensionais de ¹H, ¹³C{¹H}, TOCSY 1D (*Total Correlated Spectroscopy*), HOMODEC (*Homonuclear decoupling*), NOESY 1D (*Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy*) e bidimensionais, como Cosy ¹H-¹H (*Homonuclear Correlation Spectroscopy*), HSQC ¹H-¹³C{¹H} (*Heteronuclear Single Quantum Coherence*) e HMBC ¹H-¹³C{¹H} (*Heteronuclear Multiple Bond Coherence*). Todos os espectros foram obtidos em dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d₆).

A análise dos espectros obtidos corrobora para a obtenção do ligante **L1** na forma pura, com o número de sinais e os valores de integração dos picos estando de acordo com o número de hidrogênios propostos para a estrutura. A caracterização dos sinais nos espectros seguiu a numeração apresentada no **Esquema 17**. Na **Figura 50** é apresentado o espectro de RMN de ¹H para o ligante **L1**.

Esquema 17: Numeração adotada para a caracterização da estrutura do ligante **L1**.

Considerando a estrutura proposta para **L1**, identificam-se dois hidrogênios ácidos na molécula, sendo esses pertencentes ao nitrogênio hidrazínico (N9) e a protonação do nitrogênio do anel morfolina (N20). Os sinais desses hidrogênios são identificados na região de maior desblindagem do espectro, na forma dos singletos em δ 11,37 e δ 11,17, sendo este último por característica, um sinal alargado. Foi reportado por Silva, D, E, S, *et al*, para o composto vanilina-morfolina-tiossemicarbazona um sinal para o hidrogênio hidrazínico em δ 11,31 [102]. Essa informação, por comparação pode indicar que o singlete em δ 11,37, identificado no espectro de **L1**, se refere ao hidrogênio hidrazínico enquanto o sinal alargado em δ 11,17 se refere ao H20 do anel morfolina. A presença desse sinal para a protonação do anel morfolina concorda com os dados caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho e análise elementar, no qual se propõem a obtenção do ligante na forma cloridratada.

Figura 50: Espectro de RMN ^1H em $\text{dms}\text{-d}_6$ para o ligante **L1** (14,1 T).

Na região do espectro para hidrogênios aromáticos, entre $\delta 7,0$ - $\delta 8,0$ [152], é observado um conjunto de três sinais em $\delta 7,48$; $\delta 7,26$ e $\delta 7,08$. Estes sinais são atribuídos respectivamente aos hidrogênios H5, H1 e H2 do anel aromático da porção vanilina. Considerando os acoplamentos desses hidrogênios, os hidrogênios H5 e H2 aparecem na forma de dubletos, enquanto o hidrogênio H1 na forma de um duplo dubleto.

Em $\delta 7,99$ é identificado um singleto com integração para um hidrogênio, que corresponde ao hidrogênio H7 do grupo $\text{C}=\text{N}$. O sinal triplete em $\delta 8,48$ foi atribuído ao hidrogênio H11 do grupo NH da porção tiossemicarbazona. A atribuição desse sinal foi feita com base no acoplamento entre o H11 com os hidrogênios do substituinte etil da porção tiossemicarbazona (H12 e H13).

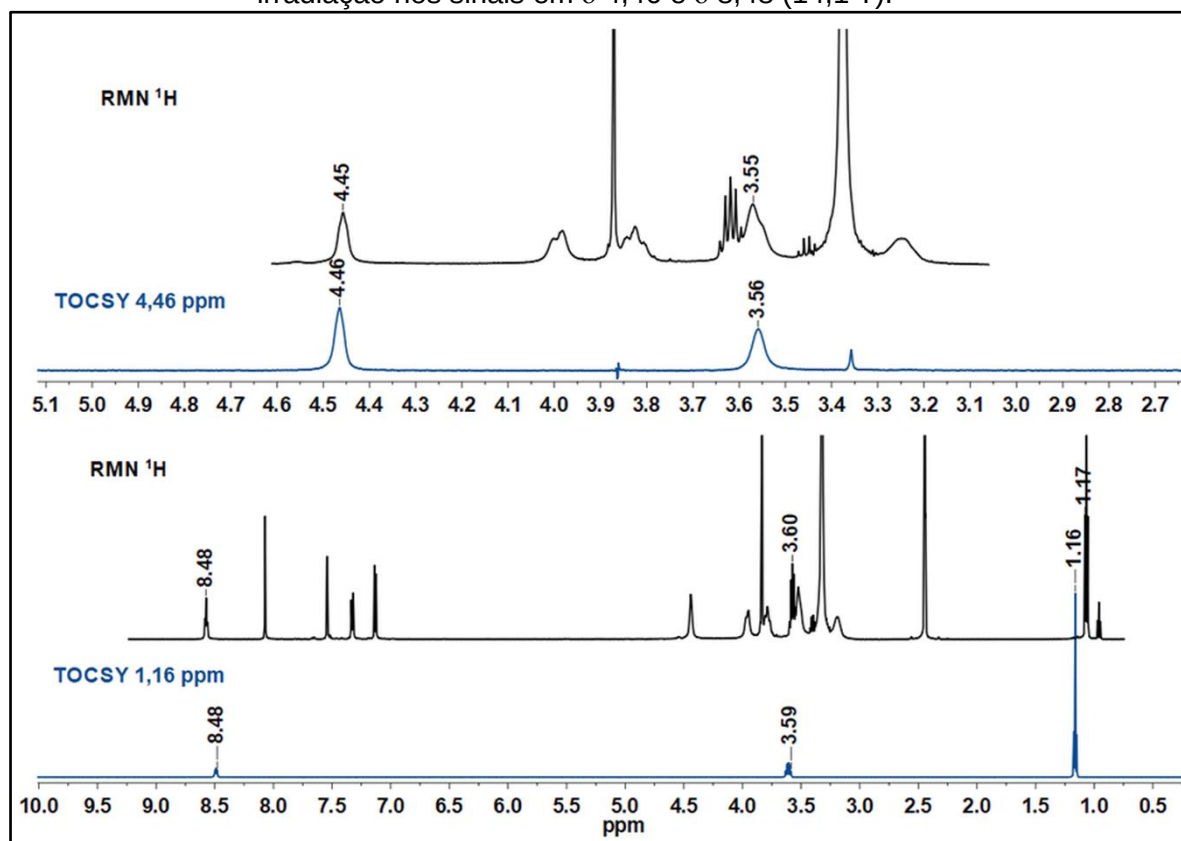
Os sinais na região dos hidrogênios alifáticos aparecem alargados pelo efeito que os átomos de nitrogênio N11 e N20 exercem sobre o tempo de relaxação desses prótons. Dentre esses sinais, há um singleto em $\delta 3,86$ que corresponde aos hidrogênios H16 do substituinte metoxila da porção vanilina. O

sinal para os hidrogênios desse grupo apresentam deslocamento típico entre δ 3,2-3,8, em função do efeito de blindagem causado pela eletronegatividade do oxigênio [152].

Os hidrogênios do grupo etil originam dois sinais no espectro, um tripleto centrado em aproximadamente δ 1,83 e um quarteto na região aproximada de δ 3,59 [152]. Desta forma, o tripleto em δ 1,16 e o quarteto em δ 3,59 foram atribuídos aos hidrogênios H13 e H12, respectivamente, do substituinte etil do fragmento tiossemicarbazona.

Os demais sinais nas regiões de δ 4,45; δ 3,97; δ 3,81; δ 3,60; δ 3,55 e δ 3,22 não puderam ser atribuídos apenas pelo espectro de RMN ^1H , sendo necessário a utilização de outros experimentos unidimensionais. Assim, na **Figura 51** são apresentados os espectros de TOCSY 1D, obtidos a partir de irradiação das regiões de δ 4,45 e 1,16.

Figura 51: Espectros obtidos com o experimento TOCSY 1D para o ligante **L1**, com irradiação nos sinais em δ 4,46 e δ 8,48 (14,1 T).

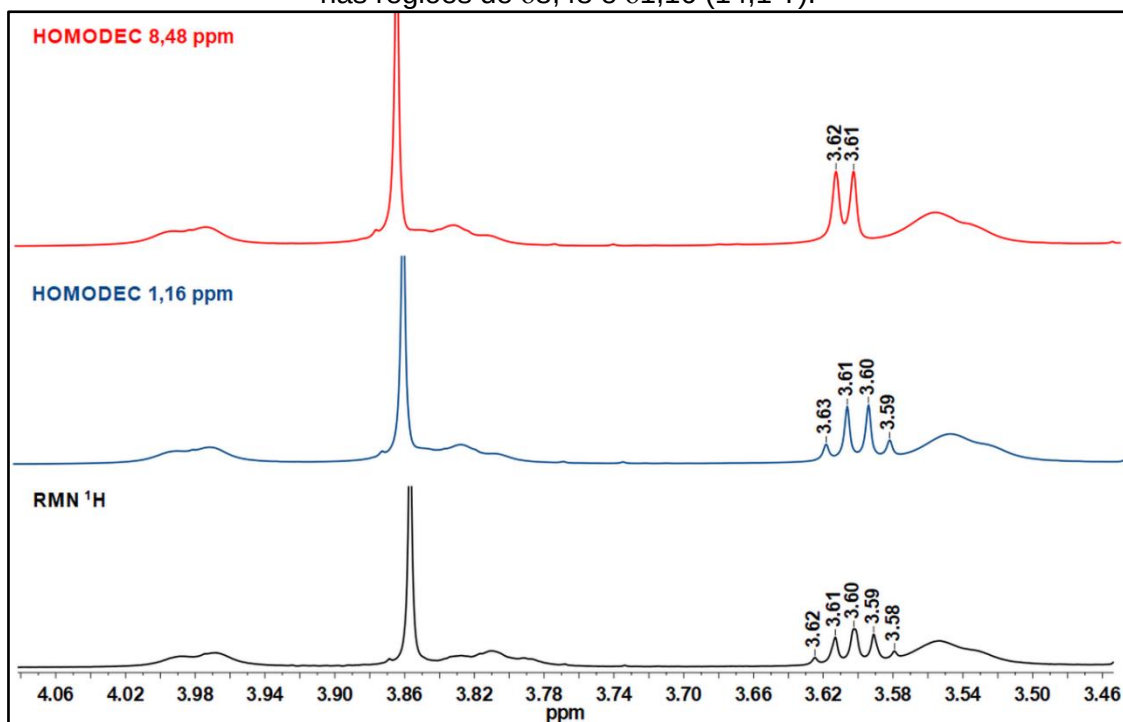


A irradiação do singlete alargado em δ 4,46 resultou na presença de um único sinal em δ 3,56. Esses sinais podem ser atribuídos aos hidrogênios H18 e

H19 da porção etil do grupo morfolina, respectivamente, uma vez que esses hidrogênios configuram um sistema de spin isolado na estrutura de **L1**.

Quando se irradiou o tripleto em δ 1,16 (H13), houve o surgimento de dois conjuntos de sinais em δ 8,48 e δ 3,60, demonstrando que os hidrogênios relacionados a esses sinais se encontram em um mesmo sistema de spin. Estes sinais se referem respectivamente ao tripleto do hidrogênio H11 do grupo NH e o quarteto dos hidrogênios metilenos (H12) do substituinte etil da porção tiossemicarbazona. Os acoplamentos entre os hidrogênios dos grupos NH e etil do substituinte na porção tiossemicarbazona foram igualmente evidenciados pelo experimento HOMODEC 1D, cujos espectros são apresentados na **Figura 52**.

Figura 52: Espectros obtidos para o experimento HOMODEC 1D para o ligante **L1**, nas regiões de δ 8,48 e δ 1,16 (14,1 T).



O experimento HOMODEC foi realizado nas regiões de δ 8,48 e δ 1,16, o que permitiu distinguir a composição do conjunto de sinais referentes aos hidrogênios do grupo metileno em δ 3,60. Pelo espectro obtido ficou evidente que o sinal dos hidrogênios H12 é constituído por uma sobreposição de um dubleto, resultante do acoplamento com o hidrogênio H11 do grupo NH, e de um quarteto, resultante do acoplamento com os hidrogênios H13 do grupo CH₃.

As atribuições dos sinais para hidrogênios aromáticos foram confirmadas pelo experimento de NOESY 1D. Além disso, o resultado deste experimento ainda permitiu a elucidação do posicionamento da fração morfolina na estrutura de **L1**. Os dois espectros de RMN obtidos inicialmente pelo experimento são apresentados nas **Figura 53** e **54**.

Figura 53: Espectro obtido pelo experimento NOESY 1D avaliado sobre o sinal em δ 7,99 (14,1 T).

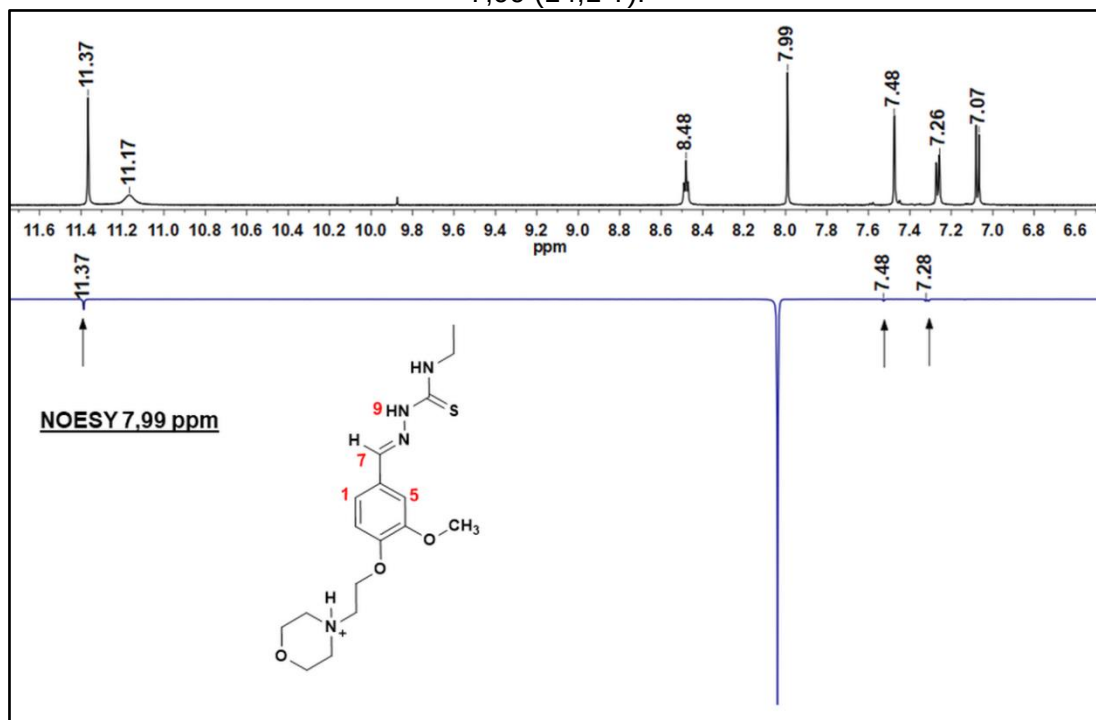
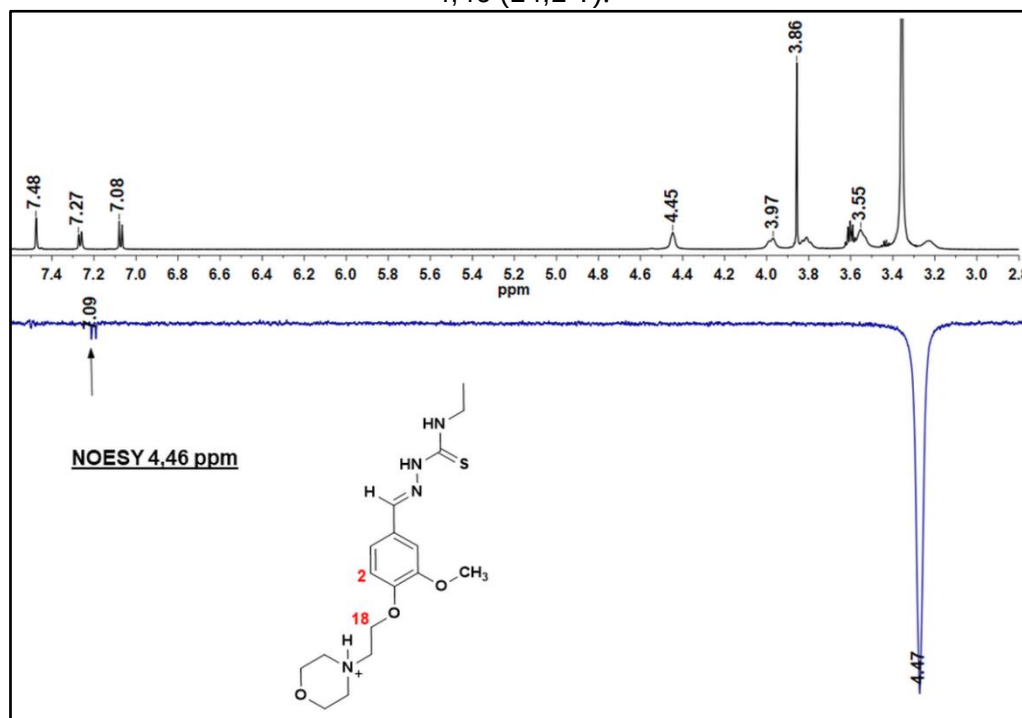


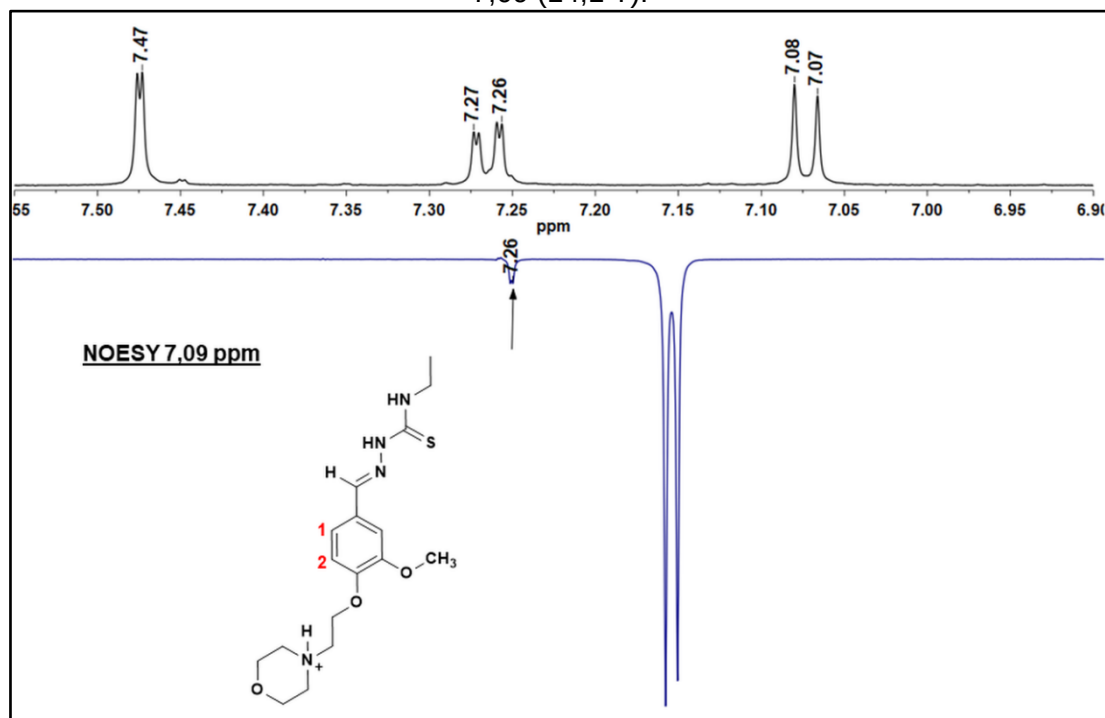
Figura 54: Espectro obtido pelo experimento NOESY 1D avaliado sobre o sinal em δ 4,46 (14,1 T).



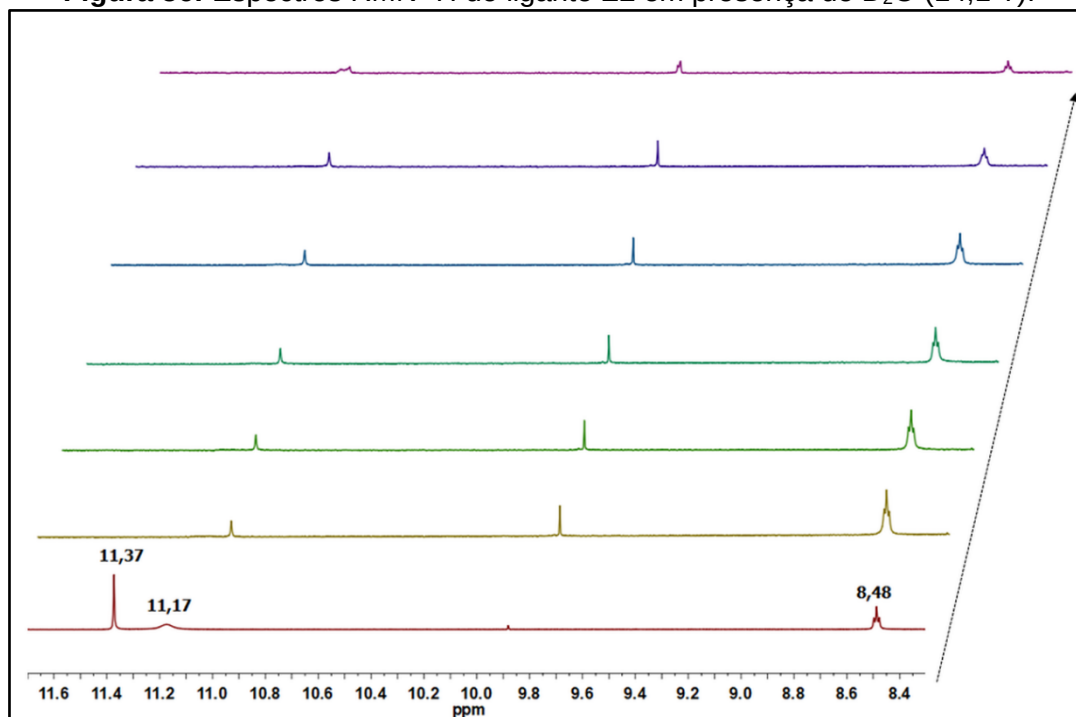
O efeito NOE avaliado sobre o sinal em δ 7,99 (H7), demonstrou que este sistema de spin se encontra próximo ao hidrogênio em δ 11,37 (H9) bem como aos hidrogênios em δ 7,48 e δ 7,28 (H5 e H1). Já o efeito NOE avaliado sobre o sinal em δ 4,46 demonstrou que este sistema de spin se apresenta próximo ao hidrogênio em δ 7,09 (H2). Considerando que o sinal em δ 4,46 foi atribuído aos hidrogênios H18 do grupo metileno da morfolina, pode-se indicar que essa fração se encontra posicionada como representado no **Esquema 17**.

Caracterizado o sinal em δ 7,09 como pertencente ao hidrogênio H2 do sistema aromático da porção morfolina, o efeito NOE avaliado sobre ele, cujo espectro é apresentado na **Figura 55**, demonstrou a proximidade deste sistema de spin com o hidrogênio em δ 7,29. Essa observação confirma que o sinal em δ 7,29 refere-se ao hidrogênio H1, em posição *orto* a H2. Ainda, por exclusão, essa avaliação caracteriza o sinal em δ 7,48 como sendo referente ao hidrogênio H5, em posição *para* ao hidrogênio H2.

Figura 55: Espectro obtido pelo experimento NOESY 1D avaliado sobre o sinal em δ 7,09 (14,1 T).



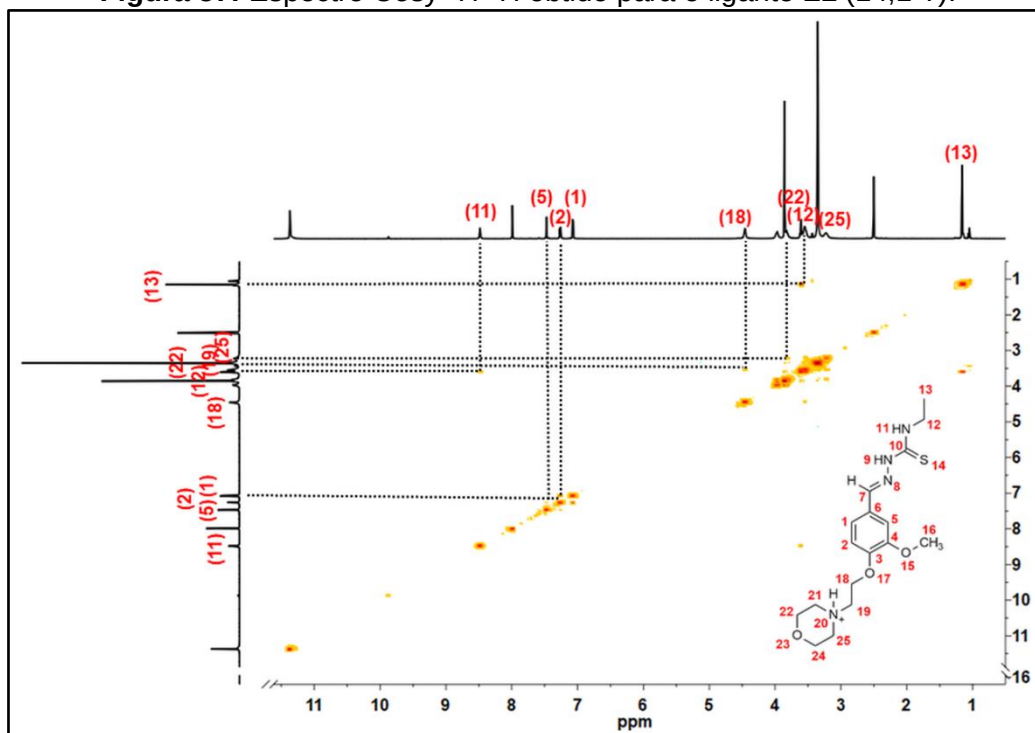
Visando a caracterização dos hidrogênios dos grupos amina presentes na estrutura de **L1**, foram coletados espectros de RMN ^1H com água deuterada (D_2O), a fim de avaliar a velocidade de troca desses hidrogênios por deutério. Dessa maneira, os espectros foram coletados, aproximadamente, a cada 1 segundo, sendo apresentados na **Figura 56**.

Figura 56: Espectros RMN ^1H do ligante **L1** em presença de D_2O (14,1 T).

Pôde-se observar, ainda no primeiro espectro coletado, a supressão do sinal em δ 11,37, referente ao hidrogênio H9 do fragmento tiossemicarbazona. Esse comportamento propõe que o hidrogênio H9 apresenta o maior caráter ácido da molécula.

O sinal em δ 11,17, atribuído ao hidrogênio H20, com o passar do tempo, diminui drasticamente sua intensidade, enquanto o tripleto em δ 8,48, referente ao hidrogênio H11, apresentou uma diminuição de intensidade menos acentuada. Esse comportamento sugere um menor caráter ácido do hidrogênio H20, da protonação do anel morfolina, em comparação ao hidrogênio H11, do substituinte etil no fragmento tiossemicarbazona.

Para avaliar a correlação entre os hidrogênios na estrutura do ligante **L1**, foi realizado o experimento Cosy ^1H - ^1H , cujo espectro é apresentado na **Figura 57**. Observa-se que os sinais em δ 11,36, δ 7,99 e δ 3,86 não apresentam correlação com outros sistemas de spin. Esse resultado confirma as atribuições feitas inicialmente pela análise do espectro de RMN ^1H , na qual esses sinais se referem, respectivamente, aos hidrogênios H9 (NH hidrazínico), H7 (hidrogênio inicialmente da função aldeído da vanilina) e H16 (substituinte metóxi da vanilina).

Figura 57: Espectro Cosy ^1H - ^1H obtido para o ligante **L1** (14,1 T).

No conjunto de spins referente ao substituinte etil do fragmento tiossemicarbazona, são evidenciadas as correlações do sinal em δ 3,60 (H12), com os sinais em δ 8,48 (H11) e δ 1,16 (H13). Já no sistema de spin aromático, são observadas correlações em meta entre o sinal em δ 7,48 (H5) e o sinal em δ 7,26 (H1), o qual relaciona-se igualmente em orto com o sinal em δ 7,07 (H2).

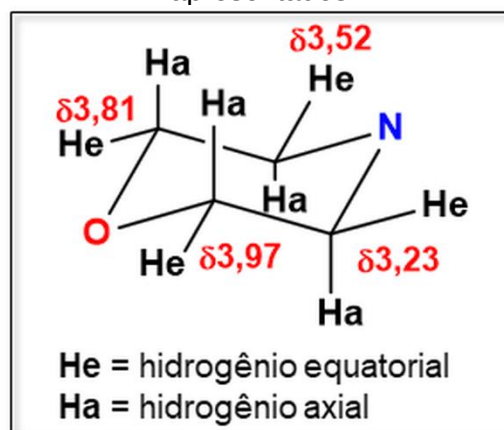
Para os sinais dos hidrogênios alifáticos, os quais representam o grupo morfolina na estrutura de **L1**, a análise do espectro Cosy ^1H - ^1H propiciou a distinção dos sistemas de spin próximos aos átomos de oxigênio e nitrogênio no anel morfolina. Assim como evidenciado pelo experimento de TOCSY 1D, o sinal em δ 4,45, referente aos hidrogênios H18, correlaciona-se com um dos sinais sobrepostos na região de δ 3,55. Esse resultado caracteriza o sinal em δ 3,55 como sendo dos hidrogênios H19 da porção etil do substituinte morfolina.

Adicionalmente, o sinal sobreposto em δ 3,55 correlaciona-se com o sinal em δ 3,23, que se refere a um dos sistemas de spin vizinhos ao átomo de nitrogênio no anel morfolina. Dessa forma, os hidrogênios H21 e H25 podem ser atribuídos aos sinais em δ 3,23 e ao sinal sobreposto em δ 3,55, não sendo possível a distinção entre eles.

O sinal em δ 3,81 correlaciona-se com o sinal em δ 3,97. Por essa observação, pode-se propor que o sinal em δ 3,97 representa os hidrogênios H24 enquanto o sinal em δ 3,81 os hidrogênios H24 do sistema de spin vizinho ao átomo de oxigênio no anel morfolina.

O anel morfolina, por ser um anel alifático derivado do ciclohexano, pode apresentar-se sob diferentes conformações, podendo estar na conformação “cadeira” ou “barco”, sendo esta última a mais estável. Essa condição faz com que os hidrogênios de um mesmo sistema de spin sejam diferenciados em axiais e equatoriais, conforme representado no **Esquema 18** [152]. Assim, o comportamento dessa espécie em solução pode ocasionar uma diferenciação nos sinais dos hidrogênios nessas posições, o que pode explicar a observação de quatro sinais distintos no espectro de RMN ^1H para o ligante **L1**, além da não distinção entre os pares de sistemas de spin vizinhos aos heteroátomos. Ademais, a presença dos átomos de oxigênio e nitrogênio no anel morfolina ocasionam um alargamento desses sinais, dificultando a definição da multiplicidade e por consequência, a determinação das constantes de acoplamento relacionadas.

Esquema 18: Representação dos hidrogênios em posições axiais e equatoriais no anel morfolina, com a indicação dos respectivos deslocamentos químicos apresentados.



Para a caracterização dos átomos de carbono na estrutura de **L1**, foi obtido o espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, o qual é apresentado na **Figura 58**. Foram realizados os experimentos bidimensionais de HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para observação das correlações diretas e a longa distância entre os átomos de carbono e hidrogênio na estrutura de **L1**, complementando a

caracterização dos átomos de carbono. Os mapas de contorno obtidos são apresentados nas **Figuras 59 e 60**.

Figura 58: Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtido para o ligante **L1** (14,1 T).

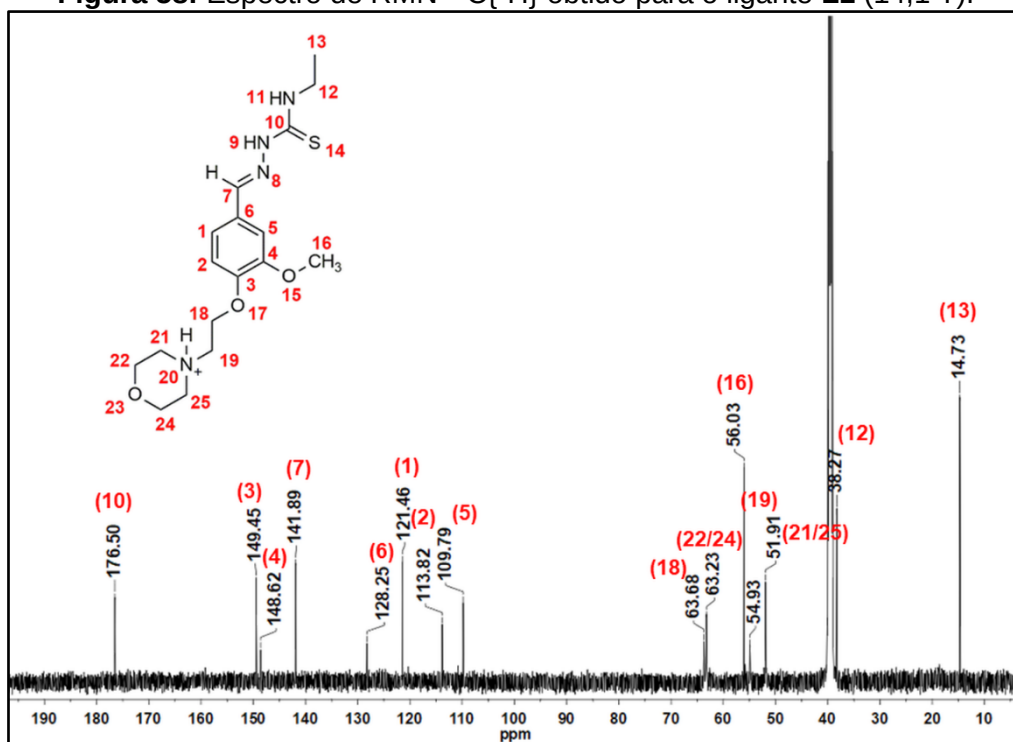


Figura 59: Mapa de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtido para o ligante **L1** (14,1 T).

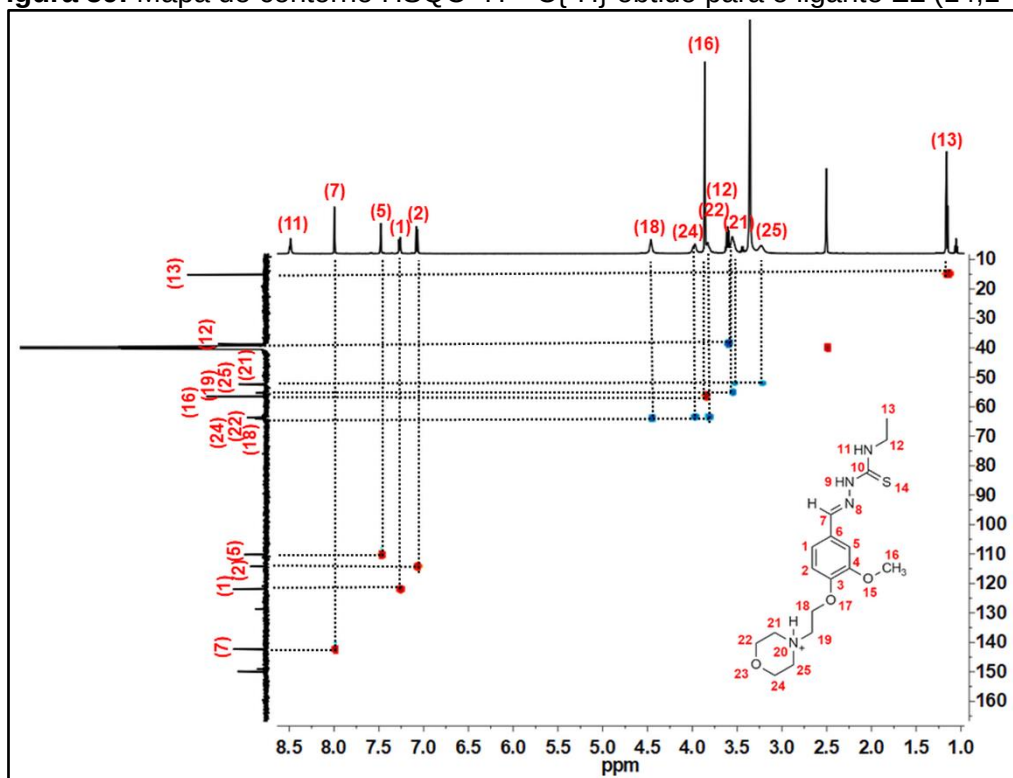
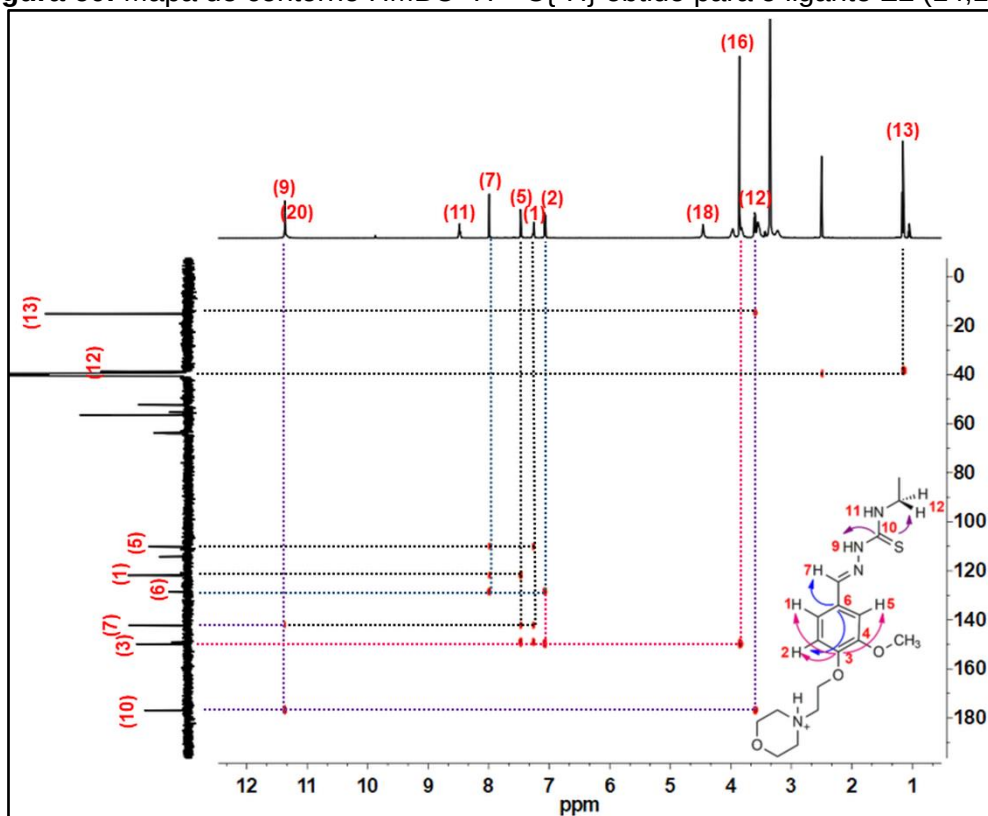


Figura 60: Mapa de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtido para o ligante **L1** (14,1 T).

O espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o ligante **L1** apresenta 17 sinais distintos, concordando com o número de carbonos da estrutura proposta para o composto. A partir das correlações observadas pelo mapa de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, foram atribuídos os deslocamentos químicos referentes aos átomos de carbono aromáticos não quaternários C1, C2 e C5 em δ 121,46; δ 113,82 e δ 109,79, respectivamente. Os valores de deslocamento químico observados estão próximos a faixa para carbonos aromáticos (δ 110-175) [152].

Os sinais referentes aos carbonos C12 e C13 do substituinte etil da porção tiossemicarbazona foram observados na região de maior blindagem do espectro, em δ 38,27 e δ 14,73 respectivamente. Os sinais em δ 63,68 e δ 54,93 foram atribuídos respectivamente aos carbonos C18 e C19 do substituinte morfolina.

Em função da similaridade de ambiente químico, os carbonos do anel morfolina, C22 e C24, originam um mesmo sinal alargado em δ 63,23. Da mesma forma, os carbonos C21 e C25 do anel morfolina apresentam um mesmo deslocamento químico em δ 51,91.

Conforme esperado, observou-se a ausência de sinais no mapa de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para os quatro carbonos quaternários na molécula (C3, C6, C4 e C10). Assim, através das correlações a longa distância no mapa HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, foram definidos os sinais destes carbonos. Os carbonos quaternários do anel aromático da porção vanilina, C3, C6 e C4, foram atribuídos aos sinais em δ 149,45; δ 128,25 e δ 145,62. O sinal referente ao carbono C4, em δ 145,62, foi atribuído indiretamente por exclusão, uma vez que este carbono não apresentou correlações com hidrogênios a longa distância.

Considerando a posterior coordenação do ligante **L1** através dos átomos de nitrogênio e enxofre, a atribuição dos sinais referentes aos carbonos do grupo tioamida (C10) e imínico (C7) é de extrema importância quando se visa a posterior caracterização dos respectivos complexos. Dessa forma, o sinal em δ 176,55 foi atribuído ao carbono C10, enquanto o sinal em δ 141,98 ao carbono C7. Pode-se observar que o carbono do grupo tioamida apresenta-se como o mais desblindado no espectro, em função da ligação direta ao átomo de enxofre. Esse comportamento é comum a ligantes tiossemicarbazona, o que pode ser exemplificado pelo trabalho de Silva, D.; *et al*, onde para o ligante vanilina-morfolina-tiossemicarbazona, o deslocamento para o carbono do grupo tioamida foi de δ 177,5 [102]. Da mesma forma, Farias, R.; *et al* reportou um valor de deslocamento químico para o carbono do grupo tioamida em δ 177 para ligantes tiossemicarbazonas derivados de cinemaldeído [54].

Quanto ao deslocamento químico apresentado pelo carbono imínico (HC=N), de δ 141,98, está também de acordo com o reportado por Silva, D.; *et al* (δ 142,5) e Farias, R.; *et al* (δ 144) [54,102]. Na **Tabela 16** a seguir são apresentadas as atribuições feitas para os átomos de hidrogênio e carbono da estrutura do ligante **L1**.

Tabela 16: Atribuições feitas por RMN para os átomos de hidrogênios e carbono presentes na estrutura do ligante **L1**.

Posição	Deslocamento químico (δ)	
	^1H	^{13}C
1	7,26; <i>dd</i> ; [1H]; <i>J</i> = 6 Hz	121,46
2	7,07; <i>d</i> ; [1H]; <i>J</i> = 6 Hz	113,82
3	*	149,45
4	*	148,62
5	7,48; <i>d</i> ; [1H]; <i>J</i> = 6 Hz	109,79
6	*	128,25
7	7,99; <i>s_{al}</i> ; [1H]	141,89
9	11,37; <i>s_{al}</i> ; [1H]	**
10	*	176,50
11	8,47; <i>t</i> ; [1H]; <i>J</i> = 6 Hz e <i>J</i> = 12 Hz	**
12	3,59; <i>d+q</i> ; [2H]; <i>J</i> = 6 Hz e <i>J</i> = 12 Hz	38,27
13	1,16; <i>t</i> ; [3H]; <i>J</i> = 6 Hz e <i>J</i> = 12 Hz	14,73
16	3,85; <i>s</i> ; [3H]	56,03
18	4,46; <i>s_{al}</i> ; [2H]	63,68
19	3,54; <i>s_{al}</i> ; [4H]	54,93
20	11,16; <i>s_{al}</i> ; [1H]	**
21	3,52; <i>s_{al}</i> ; [4H]	51,91
22	3,81; <i>t_{al}</i> ; [2H]	63,23
24	3,97; <i>d_{al}</i> ; [2H]	63,23
25	3,23; <i>s_{al}</i> ; [2H]	51,91

Multiplicidade *al*: sinal alargado.

* = Carbono quaternário.

** = Hidrogênio ligado a nitrogênio.

A partir da elucidação estrutural do ligante **L1**, foram feitos experimentos de RMN a fim de realizar a caracterização dos complexos **J1-4** em solução. A caracterização por RMN permitiu comprovar a obtenção dos complexos bem como identificar a presença ou não de isômeros em solução. Desta forma, foram realizados os experimentos unidimensionais de RMN ^1H , RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e bidimensionais HMBC $^1\text{H}-^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e HSQC $^1\text{H}-^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para os quatro complexos sintetizados.

Uma primeira análise dos espectros de RMN ^1H obtidos para os complexos evidencia a obtenção de compostos puros e a existência de apenas uma espécie em solução, com o número de sinais e valores de integração coerentes com o número de hidrogênios propostos para as estruturas. Ainda corroborando com esse resultado, os espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ obtidos para os quatro complexos apresentaram apenas um sinal, evidenciando a presença de um único ligante fosfínico nas estruturas. Nas **Figuras 61 e 62** são apresentados

os espectros de RMN ^1H e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ adquiridos para o complexo $[\text{PdCl}(\text{L1})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (**J1**), bem como o sistema de numeração adotado para a caracterização.

Figura 61: Espectro de RMN ^1H obtido para o complexo **J1** (14,1 T).

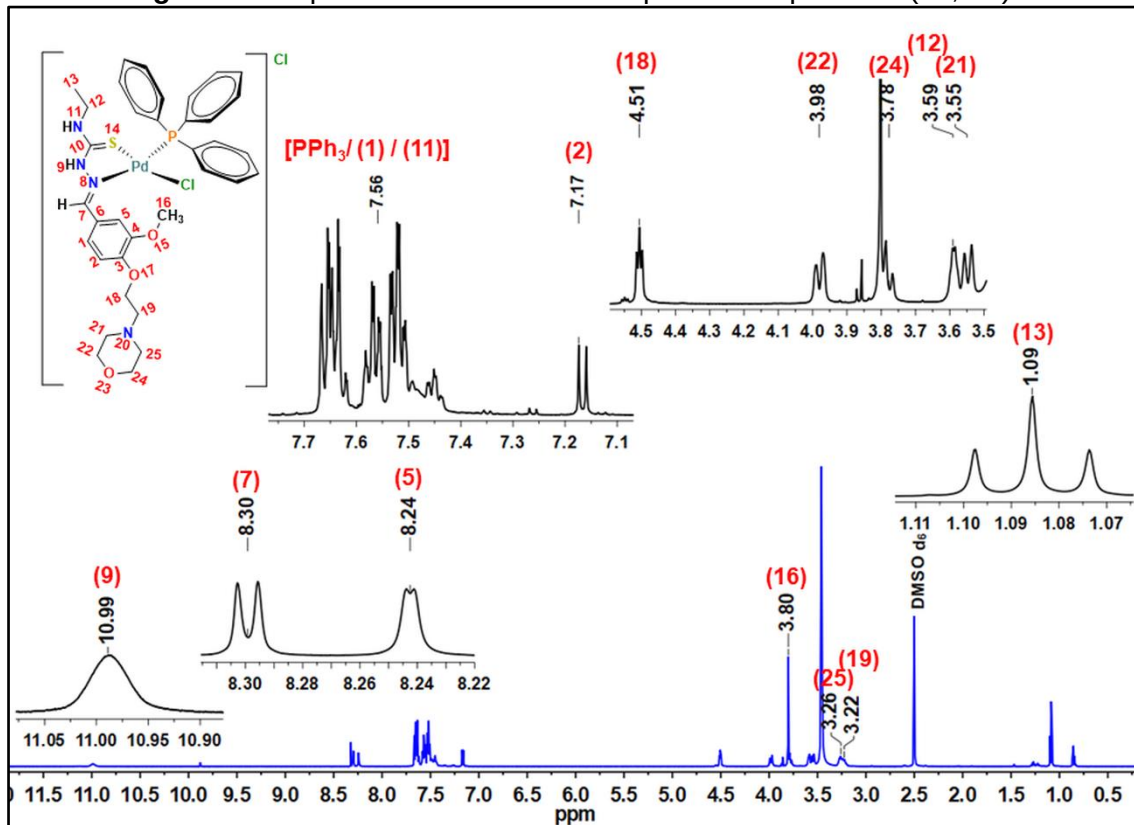
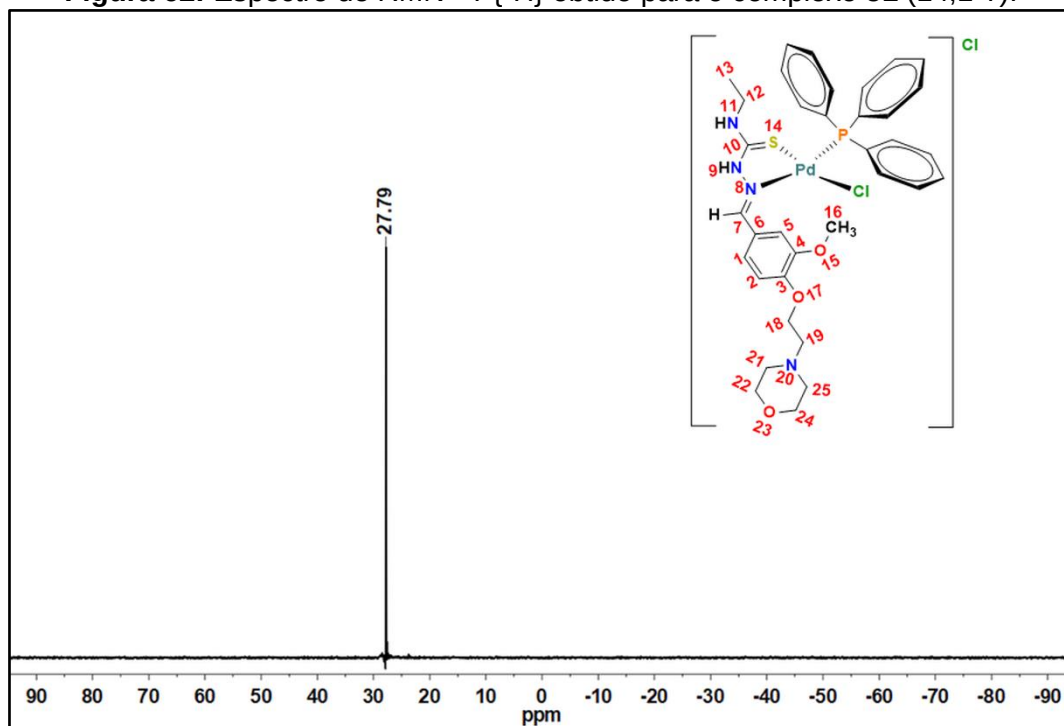


Figura 62: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo **J1** (14,1 T).

No espectro de RMN ^1H do complexo **J1** observam-se tanto os sinais característicos do ligante **L1** quanto do ligante trifeníl-fosfina, em uma proporção 1:1, concordando com a presença destes na esfera de coordenação, conforme proposto. O sinal referente ao hidrogênio H20 do ligante **L1**, oriundo da protonação do anel morfolina, não foi observado no espectro de **J1**. Essa condição coincide com o observado no espectro na região do IV obtido para o complexo, demonstrando a desprotonação do anel morfolina quando da coordenação de **L1** ao centro metálico. Além disso, essa característica estrutural pode justificar a diminuição da solubilidade em água apresentada pelo complexo **J1** quando comparada a solubilidade do ligante **L1** livre.

Para o espectro RMN ^1H do complexo **J1**, em comparação ao espectro obtido para **L1**, observa-se um efeito de blindagem do hidrogênio hidrazínico (H9), sendo deslocado de $\delta 11,37$ para $\delta 10,99$. Esse efeito não era esperado em função da proximidade do hidrogênio hidrazínico do núcleo coordenante no ligante **L1**. Comumente a coordenação do enxofre (tioamida) e do nitrogênio (grupo $\text{C}=\text{N}$) promove uma deslocalização eletrônica na porção $-\text{N}-\text{NH}-\text{C}=\text{S}$ em direção ao centro metálico, desblindando o hidrogênio hidrazínico [112,199]. Por

essa condição esse hidrogênio é reconhecido como o mais ácido na estrutura de ligantes tiossemicarbazonas, onde muitas vezes acaba sendo removido por uma base do meio, fazendo com que o ligante atue de forma aniônica [199]. Nesse contexto, a blindagem sobre o hidrogênio hidrazínico (H9) pode indicar um deslocamento de densidade eletrônica do Pd^{II} em direção ao ligante **L1**, caracterizando um efeito de retrodoação pronunciado. Ainda, uma vez que se observa a persistência do sinal para o hidrogênio H9, pode-se aferir que o ligante **L1** coordenou-se ao íon Pd^{II} na forma neutra, tornando o complexo metálico catiônico.

O sinal referente ao hidrogênio H11 do grupo NH tioamida da porção tiossemicarbazona, que apresentou um sinal dubleto na região de δ 8,47 para o ligante **L1** livre, sofre um efeito de blindagem na estrutura de **J1**. O sinal para esse hidrogênio é deslocado para a região de hidrogênios aromáticos, sendo sobreposto aos sinais dos hidrogênios do ligante trifenilfosfina em δ 7,56. Hidrogênios de grupos amida, em função do efeito quadrupolar do nitrogênio, apresentam sinais alargados e pouco definidos, ocorrendo em uma ampla região do espectro (δ 5,0 a 9,0), podendo dessa forma coincidir com os sinais para hidrogênios aromáticos (δ 6,5 a 8,0) [152].

O hidrogênio aromático H5, pertencente ao sistema orto-para substituído, sofre um efeito anisotrópico de desblindagem em função de sua proximidade do sistema $\pi\text{C}=\text{N}$ coordenado. Esse efeito faz com que ocorra um deslocamento do sinal para esse hidrogênio, de δ 7,48 (ligante **L1** livre) para δ 8,24. Assim como para a H5, o hidrogênio H1 sente um efeito de desblindagem, podendo ser da mesma forma justificado pela proximidade deste hidrogênio do núcleo coordenante, tendo o sinal sobreposto aos hidrogênios do ligante trifenilfosfina, em δ 7,56.

O sinal referente ao hidrogênio imínico (H7) apresentou deslocamento pronunciado para regiões de maior desblindagem em relação ao ligante **L1** livre, sendo deslocado de δ 7,99 para δ 8,29. Além disso, observa-se uma modificação na multiplicidade para esse sinal, sendo um singlete para o ligante **L1** livre e um dubleto ($J = 4,8$ Hz) para o complexo **J1**. O hidrogênio H7 não apresenta

hidrogênios a distâncias J^2 ou J^3 , o que justificaria o acoplamento observado, porém encontra-se a uma distância J^4 do átomo de fósforo do ligante trifenilfosfina, podendo justificar um acoplamento H-P a longa distância.

Quanto aos hidrogênios do grupo morfolina, os sinais alargados observados no espectro do ligante **L1** livre apresentaram maior definição com a coordenação ao centro metálico. Apesar disso, pelo distanciamento destes sistemas de spin do núcleo coordenante, os sinais para os hidrogênios H18, H19, H21, H22, H24 e H26 não sofreram deslocamentos pronunciados em comparação ao espectro do ligante **L1** livre. A presença desses sinais demonstra a integridade dessa porção do ligante após a coordenação.

Ainda sobre o fragmento morfolina, no espectro do ligante **L1** os sinais dos hidrogênios H21 e H25 apresentaram-se sobrepostos na região de δ 3,55 e para o complexo **J1** observou-se o deslocamento de um desses sinais para δ 3,26. Relacionando com o mapa de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtido para o ligante **L1**, observou-se uma correlação do sinal referente ao carbono C25 a um sinal em δ 3,23. Dessa forma, o sinal deslocado para δ 3,26 no complexo **J1** pode ser atribuído aos hidrogênios H25 do anel morfolina.

O efeito de blindagem observado para todos os hidrogênios próximos ao núcleo coordenante no ligante **L1** (H11, H9, H7, H1 e H5), reforçam a hipótese da ocorrência de retrodoação com a densidade eletrônica do centro metálico sendo deslocada em direção ao ligante **L1**.

Para o ligante trifenilfosfina, a sua presença na esfera de coordenação de **J1** é confirmada tanto pelo sinal multipeto característico aos seus hidrogênios aromáticos na região de δ 7,56, quanto pelo único sinal apresentado no espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$. O sinal no espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ em δ 27,79 encontra-se coerente a valores reportados na literatura para complexos semelhantes em que o ligante trifenilfosfina coordena-se em posição *trans* ao átomo de nitrogênio do ligante tiossemicarbazona [112,113]. Além disso, o sinal para o ligante trifenilfosfina encontra-se deslocado para uma região mais desblindada do espectro em comparação ao ligante livre (δ -5), o que evidencia a coordenação do átomo de fósforo [160–162].

Para a análise dos átomos de carbono na estrutura de **J1** foram realizados os experimentos de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135), HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, cujos espectros são apresentados nas **Figuras 63, 64 e 65**, respectivamente. No espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135), os sinais em fase negativa representam os carbonos quaternários e sp^2 do complexo.

Figura 63: Espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) para o complexo **J1** (14,1 T).

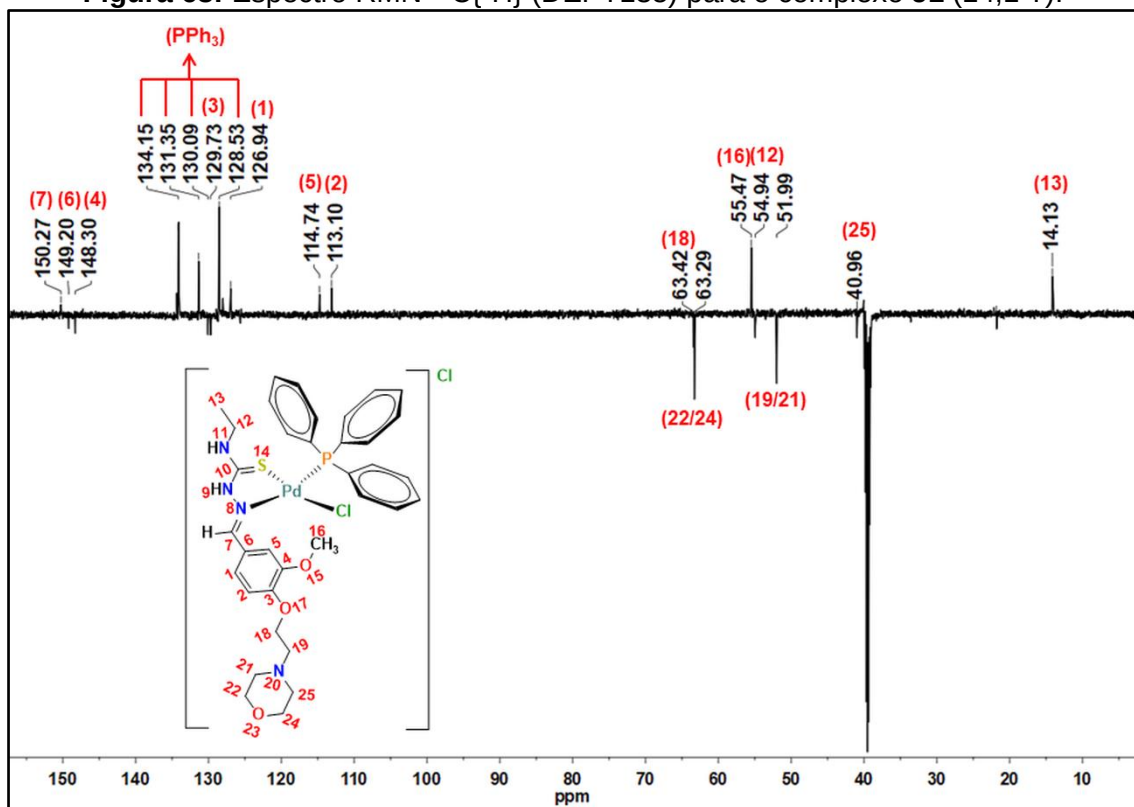
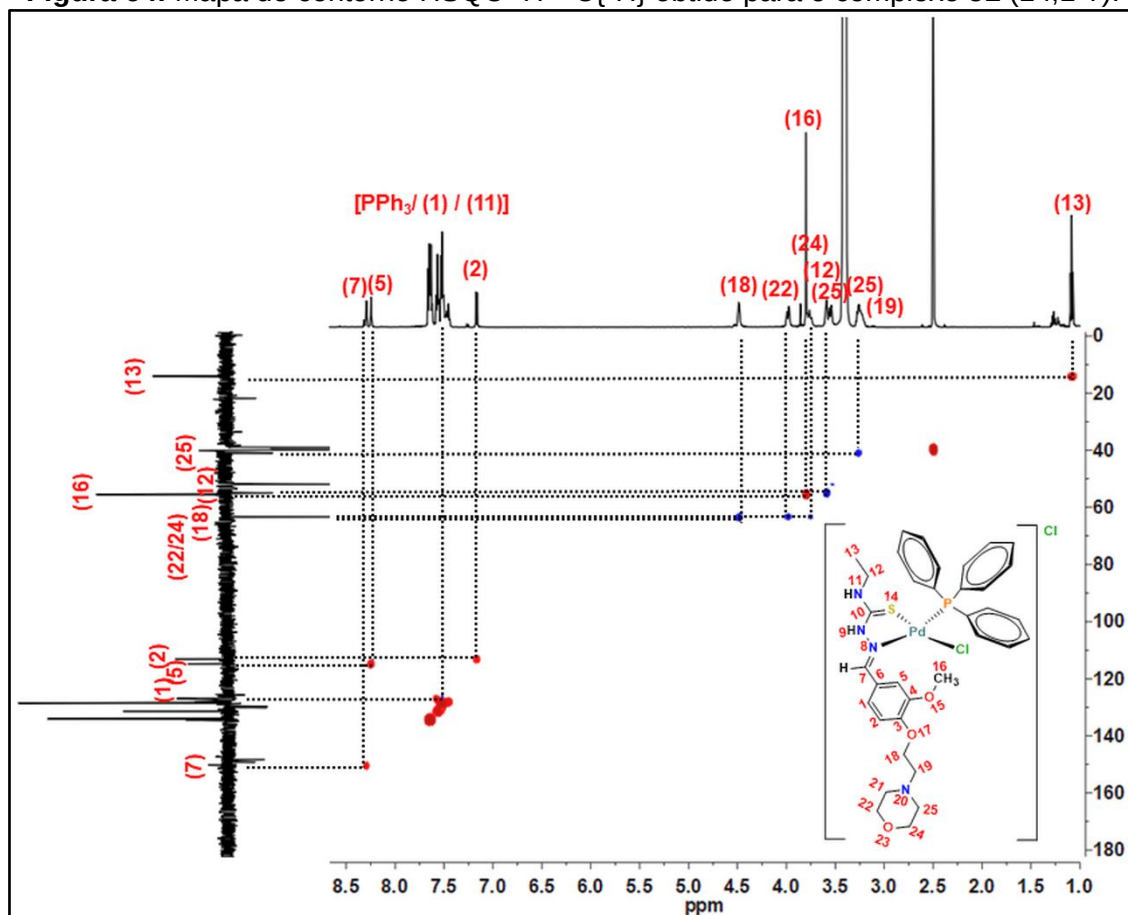


Figura 64: Mapa de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo **J1** (14,1 T).

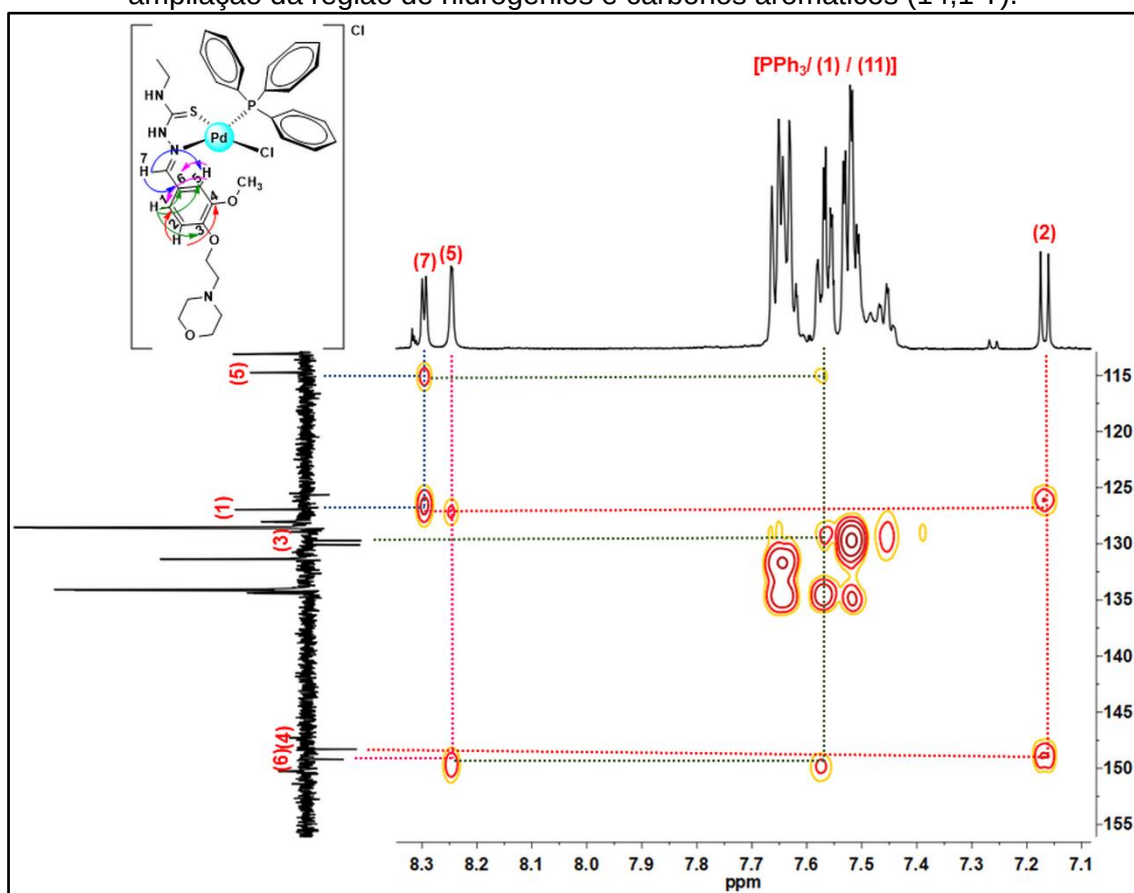
Através das correlações diretas observadas pelo mapa de contorno HSQC ^{13}C - ^1H , foi possível a caracterização de todos os sinais no espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) referentes aos átomos de carbono, segundo a estrutura proposta para o complexo **J1**, com exceção do sinal para o carbono C10. O carbono C7, pertencente ao grupo coordenante C=N da porção tiossemicarbazona do ligante **L1**, apresentou-se como o sinal mais desblindado no espectro, na região de δ 150,7. Quando comparado ao sinal observado no espectro do ligante **L1** (δ 141,89), verifica-se um efeito de desblindagem sobre esse carbono. Esse efeito pode indicar a coordenação do átomo de nitrogênio do grupo C=N ao Pd^{II} , uma vez que a densidade eletrônica da dupla ligação direciona-se ao núcleo metálico, desblindando o carbono C7. Esse comportamento é comum para ligantes tiossemicarbazonas coordenados sendo reportado por trabalhos semelhantes na literatura [54,205].

Esperava-se que o sinal referente ao carbono C10 do grupo tioamida (C=S) sofresse um efeito de blindagem pela coordenação do átomo de enxofre ao íon Pd^{II}. Para o ligante **L1** livre, o carbono C10 apresentou sinal em δ 176,50 e, considerando a ocorrência do efeito de blindagem, esse sinal deveria ocorrer em regiões de menores frequências, o que não foi contemplado pelos experimentos realizados em função do tempo de relaxação deste núcleo em específico. Essa problemática é igualmente reportada na literatura para ligantes tiossemicarbazonas coordenados [54]. Assim, de forma indireta, pode-se supor a coordenação do átomo de enxofre do grupo tioamida na estrutura do complexo **J1**, sendo essa condição reforçada pela modificação observada no momento dipolar da ligação C=S evidenciada pela análise dos espectros de infravermelho.

Os sinais para carbonos aromáticos não quaternários puderam ser caracterizados pela análise das correlações diretas observadas no mapa de contorno HSQC ¹³C-¹H. Dessa forma, os sinais em δ 113,15, δ 114,76 e δ 126,94 foram atribuídos respectivamente aos carbonos C2, C5 e C1. Destaca-se os deslocamentos pronunciados sofridos pelos sinais dos carbonos C5 e C1 em comparação ao ligante **L1** livre (δ 109,79 [C5]; δ 121,46 [C1]), caracterizando um efeito de desblindagem sobre esses átomos. Essa condição pode estar relacionada a proximidade destes carbonos do núcleo coordenante no ligante **L1**, o que também foi observado para os respectivos hidrogênios, H5 e H1.

A análise do mapa de contorno HMBC ¹H-¹³C{¹H} permitiu a caracterização dos sinais relacionados aos carbonos aromáticos quaternários do ligante **L1** na estrutura do complexo **J1**. Por essa razão, na **Figura 65** é apresentada uma ampliação do mapa de contorno HMBC ¹H-¹³C{¹H} na região de núcleos aromáticos.

Figura 65: Mapa de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo **J1**, com ampliação da região de hidrogênios e carbonos aromáticos (14,1 T).



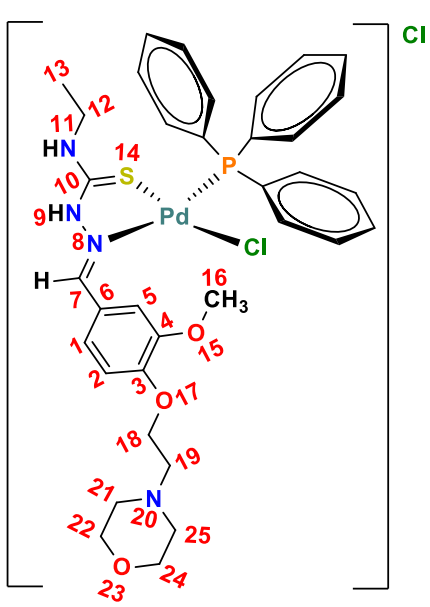
Pelo espectro de RMN ^1H não foi possível atribuir com exatidão o sinal referente ao hidrogênio H1, em função da sobreposição com os sinais dos hidrogênios do ligante trifenilfosfina, na região de δ 7,56. A partir da correlação a longa distância, apresentada no mapa de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, do carbono C5 (δ 114,74) com o sinal em δ 7,57, pode-se atribuir esse sinal ao hidrogênio H1.

Os sinais referentes aos hidrogênios H1 (δ 7,57) e H5 (δ 8,24) correlacionam-se a longa distância com o sinal em sentido negativo em δ 149,66. Por essas correlações, esse sinal foi atribuído ao carbono quaternário C6. Ainda o hidrogênio H1 correlaciona-se a longa distância com o sinal em sentido negativo em δ 129,93, sendo esse sinal caracterizado como referente ao carbono quaternário C3.

O sinal referente ao hidrogênio H2 apresenta correlação a longa distância com o sinal em sentido negativo em δ 148,93. Esse sinal, por essa correlação,

foi atribuído ao carbono quaternário C4. Considerando os sinais apresentados no espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135), existe ainda um quarto sinal em sentido negativo na região de δ 130,09 que foi atribuído, por exclusão, aos três carbonos equivalentes quaternários do ligante trifenilfosfina. Na **Tabela 17** são apresentados os dados e atribuições de RMN realizados para o complexo **J1**.

Tabela 17: Dados de RMN caracterizados para o complexo **J1**.

J1	Posição	$^1\text{H}(\delta)$; Multiplicidade; J [H]; J(Hz)	$\delta^{13}\text{C}(\delta)$
	1	7,57 <i>s_{al}</i> ; [1H]	126,94
	2	7,17 <i>d</i> ; [1H]; J = 6 Hz	113,10
	3	**	129,73
	4	**	148,30
	5	8,24; <i>s_{al}</i> ; [1H]	114,74
	6	**	149,20
	7	8,30; <i>d</i> ; [1H]; J = 4,8 Hz	150,27
	9	10,99; <i>s_{al}</i> ; [1H]	**
	10	**	nd.
	11	7,67-7,44; <i>m</i> ; [17]	**
	12	3,59; <i>q_{al}</i> ; [2H]; J = 6 Hz	54,94
	13	1,09; <i>t</i> ; [3H]; J = 6 Hz e J = 12 Hz	14,13
	16	3,80; <i>s</i> ; [3H]	55,47
	18	4,51; <i>t</i> ; [2H]; J = 6 Hz	63,42
	19	3,22; <i>d_{al}</i> ; [2H]; J = 12 Hz	51,99
	20	**	**
	21	3,55; <i>d_{al}</i> ; [2H]; J = 12 Hz	51,99
	22	3,97; <i>d_{al}</i> ; [2H]; J = 12 Hz	63,29
	24	3,79; <i>d_{al}</i> ; [2H]; J = 12 Hz	63,29
	25	3,26; <i>d_{al}</i> ; [2H]; J = 6 Hz	40,96
	^{31}P	27,29	**
	H_{ph}	7,67-7,44; <i>m</i> ; [17H]	134,15;
			131,35;
			130,09;
			128,53

Multiplicidade: (*s*) singleto; (*t*) tripleto; (*d*) dubleto; (*q*) quarteto; (*td*) tripleto de dubletos; (*m*) multipeto. nd; não determinado.

Os espectros de RMN ^1H , $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) obtidos para o complexo **J2** são apresentados nas **Figuras 66, 67 e 68**, respectivamente, juntamente com o sistema de numeração adotado para a caracterização. Considerando a similaridade estrutural com o complexo **J1**, os mapas de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ são apresentados nos **Anexos 17 e 18**.

Figura 66: Espectro de RMN ^1H obtido para o complexo **J2** (14,1 T).

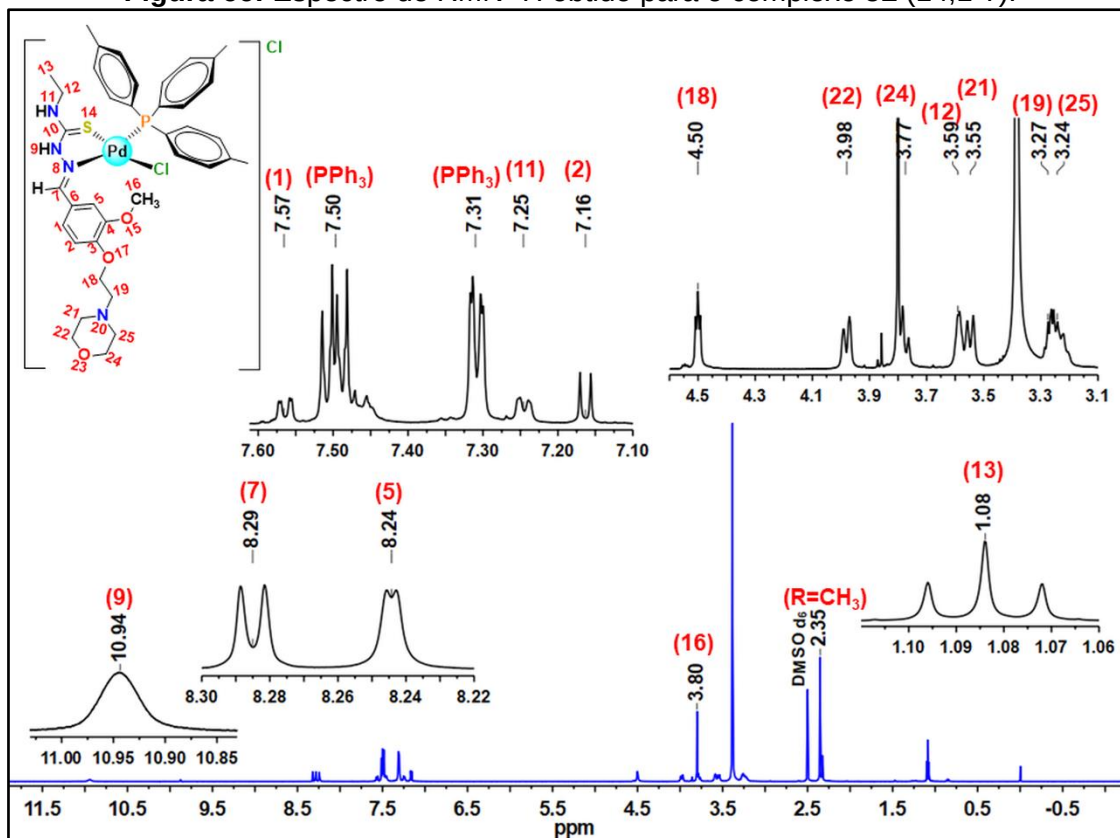
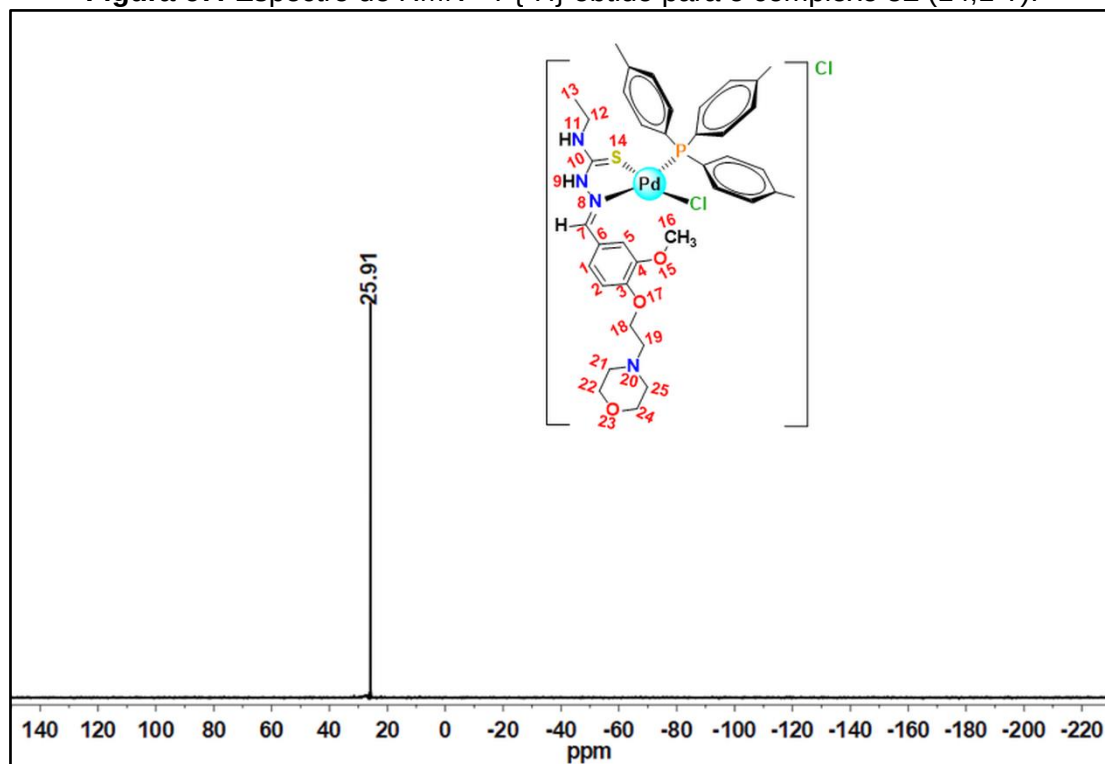
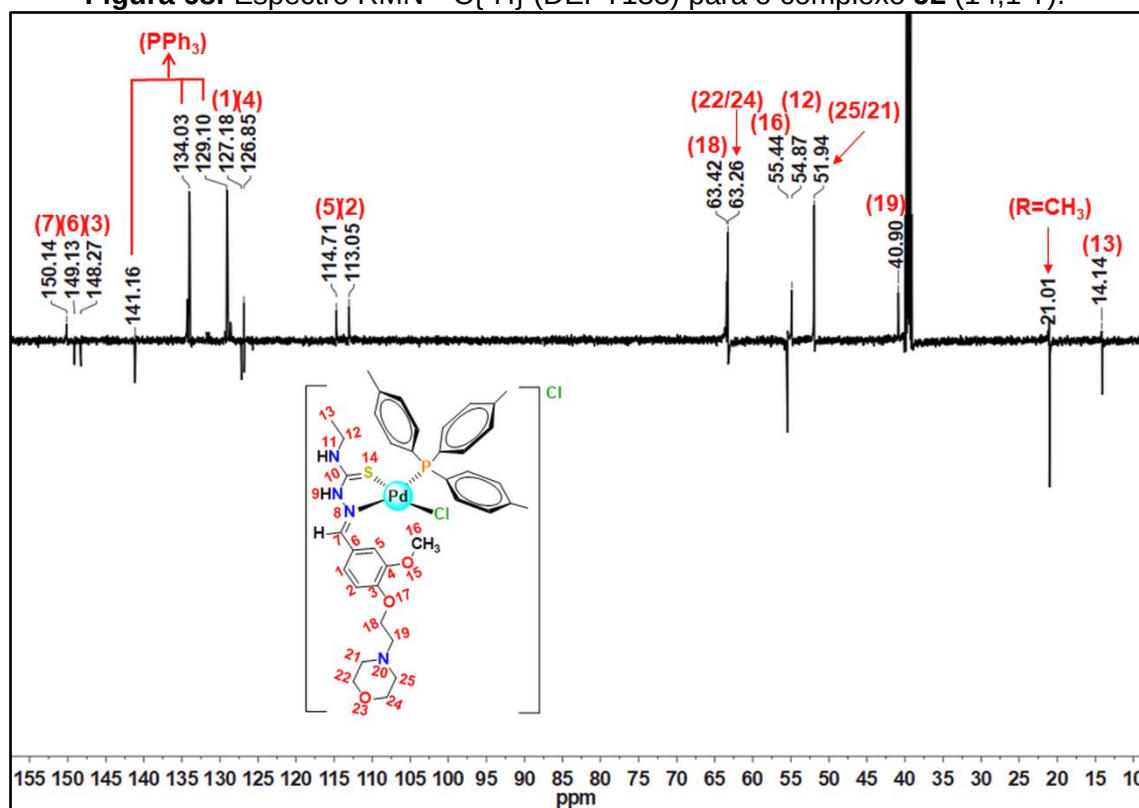


Figura 67: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo **J2** (14,1 T).**Figura 68:** Espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) para o complexo **J2** (14,1 T).

No espectro de RMN ^1H obtido para o complexo **J2**, assim como observado para o complexo **J1**, são identificados os sinais tanto dos hidrogênios do ligante **L1** quanto do ligante fosfínico em proporção equimolar, concordando com a esfera de coordenação inicialmente proposta. A presença do ligante fosfínico na estrutura do complexo **J2** foi caracterizada pelo multipletto em δ 7,50, o sinal dubleto de dubletos em δ 7,31 ($J = 6$ Hz) e o singlete em δ 2,35, com integração para nove hidrogênios, referente aos substituintes metil dos anéis fenila. Além da caracterização dos hidrogênios do ligante fosfínico, o espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo **J2** apresenta um singlete na região de δ 25,91 referente ao átomo de fósforo coordenado.

O sinal referente ao hidrogênio H20 da protonação do anel morfolina do ligante **L1** não foi identificado no espectro obtido para **L2**. Assim como para o complexo **J1**, essa condição pode justificar a baixa solubilidade em água apresentada pelo complexo **J2** e vem de encontro ao desaparecimento da banda referente ao estiramento do grupo $\text{R}_3\text{N}^+\text{-H}$ observada no espectro de IV. Ainda se identifica a persistência do sinal referente ao hidrogênio hidrazínico (H9) do fragmento tiossemicarbazona, indicando a coordenação do ligante **L1** na forma neutra, atribuindo uma estrutura catiônica para o complexo **J2**.

Os sinais para os hidrogênios aromáticos H1 (δ 7,26) e H5 (δ 7,48) do ligante **L1**, no complexo **J2** apresentam-se deslocados para regiões mais desblindadas do espectro (H1 δ 7,57; H5 δ 7,24). O efeito de desblindagem sobre esses hidrogênios pode ser resultante da proximidade com o núcleo coordenante no ligante **L1**, apresentando-se como mais um indicativo da coordenação. Além disso, os sinais para os hidrogênios amínicos H11 (δ 8,48) e H9 (δ 11,37) são deslocados para maiores frequências (H11 δ 7,25; H9 δ 10,94) em relação ao ligante **L1** livre, indicando um efeito de blindagem sobre esses núcleos. Como igualmente discutido para o complexo **J1**, esse comportamento não era esperado e pode significar uma transferência de carga do íon Pd^{II} para o ligante **L1** na estrutura de **J2**.

Os átomos de carbono na estrutura do complexo **J2** foram caracterizados pela análise conjunta do espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) e dos mapas de

contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$. O número de sinais identificados no espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) estão de acordo com o número de carbonos previstos para a estrutura do complexo **J2**, onde os sinais para carbonos sp^3 e quaternários apresentam-se em sentido negativo.

Os hidrogênios e carbonos da porção morfolina no ligante **L1** apresentam ambiente químico e características químicas bastante semelhantes, o que dificulta a definição e caracterização dos respectivos sinais. Para o complexo **J1**, os hidrogênios H19 e H25 apresentaram sinais sobrepostos na região de δ 3,22 e a caracterização dos respectivos carbonos, pela análise do mapa de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, demonstrou por correlação direta que ambos se apresentavam em δ 51,99. Para o complexo **J2** foi possível fazer a distinção entre os sinais destes carbonos, através das correlações diretas entre o sinal referente aos hidrogênios H19 e o sinal em δ 40,90. Enquanto o sinal para o carbono C25 foi identificado na região de 51,94, coincidente com o carbono C21, seu equivalente no anel morfolina.

Da mesma forma que o observado para o complexo **J1**, o sinal referente ao carbono quaternário C10 do grupo tioamida não foi identificado no espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) para o complexo **J2**. Mais uma vez essa situação se deve muito provavelmente ao tempo de relaxação deste carbono, o que dificultou o seu aparecimento no espectro.

O sinal para o carbono C7 do grupo C=N da porção tiossemicarbazona foi caracterizado por correlação direta ao hidrogênio H7 no mapa de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, na região de δ 150,14. Considerando o valor de deslocamento químico para esse carbono identificado para o ligante **L1** na região de δ 141,89, observa-se um efeito de blindagem sobre esse carbono, evidenciando a coordenação do átomo de nitrogênio azometínico ao centro metálico. Pela análise do espectro de IV obtido para **J2** não foi observado um deslocamento significativo para a banda do estiramento da ligação C=N, em comparação ao ligante **L1** livre. Dessa forma o comportamento observado para o sinal do carbono C10 pode suportar a proposta de coordenação bidentada do ligante **L1** através dos átomos de nitrogênio e enxofre.

Os sinais para os carbonos aromáticos C1 (δ 121,46), C5 (δ 109,79) e C6 (δ 128,25), próximos ao núcleo coordenante no ligante **L1**, apresentaram sinais deslocados para regiões mais desblindadas no espectro do complexo **J2** (C1 δ 127,18; C5 δ 114,71; C6 δ 149,13). Esse resultado demonstra a perturbação causada na estrutura do ligante **L1**, suportando a hipótese de coordenação. Além disso, os sinais para os demais carbonos aromáticos do ligante **L1** (C2, C4 e C3), bem como os da porção morfolina (C18, C19, C21, C22, C24 e C25) e substituição etil do fragmento tiosemicarbazona (C12, C13) em posições mais afastadas dos sítios coordenantes, não sofreram deslocamentos significativos em comparação ao ligante **L1** livre. Na **Tabela 18** são apresentados os dados e atribuições de RMN obtidos para o complexo **J2**.

Tabela 18: Dados de RMN caracterizados para o complexo **J2**.

J2	Posição	$^1\text{H}(\delta)$; Multiplicidade; J [Hz]; $J(\text{Hz})$	$^{13}\text{C}(\delta)$
	1	7,57 <i>s</i> _{al} ; [1H]	127,18
	2	7,16 <i>d</i> ; [1H]; $J = 6$ Hz	113,05
	3	**	148,27
	4	**	126,85
	5	8,24; <i>s</i> _{al} ; [1H]	114,71
	6	**	149,13
	7	8,29; <i>d</i> ; [1H]; $J = 4,8$ Hz	150,14
	9	10,94; <i>s</i> _{al} ; [1H]	**
	10	**	nd.
	11	7,25; <i>d</i> _{al} ; [1H]	**
	12	3,59; <i>q</i> _{al} ; [2H]; $J = 6$ Hz	54,87
	13	1,08; <i>t</i> ; [3H]; $J = 6$ Hz e $J = 12$ Hz	14,14
	16	3,80; <i>s</i> ; [3H]	55,44
	18	4,50; <i>t</i> ; [2H]; $J = 6$ Hz	63,42
	19	3,27; <i>d</i> _{al} ; [2H]; $J = 12$ Hz	40,90
	20	**	**
	21	3,55; <i>d</i> _{al} ; [2H]; $J = 12$ Hz	51,94
	22	3,98; <i>d</i> _{al} ; [2H]; $J = 12$ Hz	63,26
	24	3,77; <i>d</i> _{al} ; [2H]; $J = 12$ Hz	63,26
	25	3,24; <i>d</i> _{al} ; [2H]; $J = 6$ Hz	51,94
^{31}P		25,91	**
H_{ph}		7,51-7,48; <i>m</i> ; [6H]	141,16; 134,03;
$\text{R} = \text{CH}_3$		7,31; <i>dd</i> ; [6H]; $J = 6$ Hz	129,10
		2,35; <i>s</i> _{al} ; [9H]	21,01

Multiplicidade: (*s*) singleto; (*t*) tripleto; (*d*) dubleto; (*q*) quarteto; (*td*) tripleto de dubletos; (*m*) multipeto. nd; não determinado.

Os espectros de RMN ^1H , $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) coletados para o complexo **J3**, bem como o sistema de numeração adotado para a caracterização, são apresentados nas **Figura 69, 70 e 71**. Os mapas de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtidos e analisados são apresentados nos **Anexos 19 e 20**.

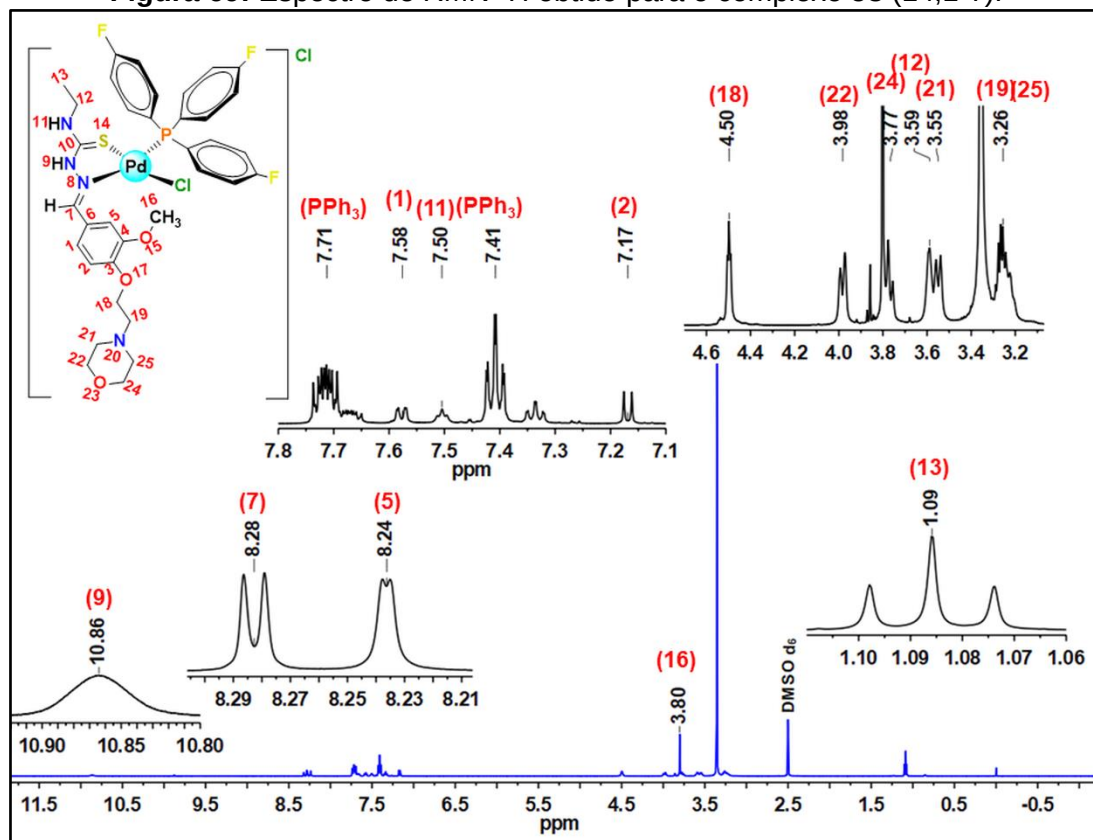
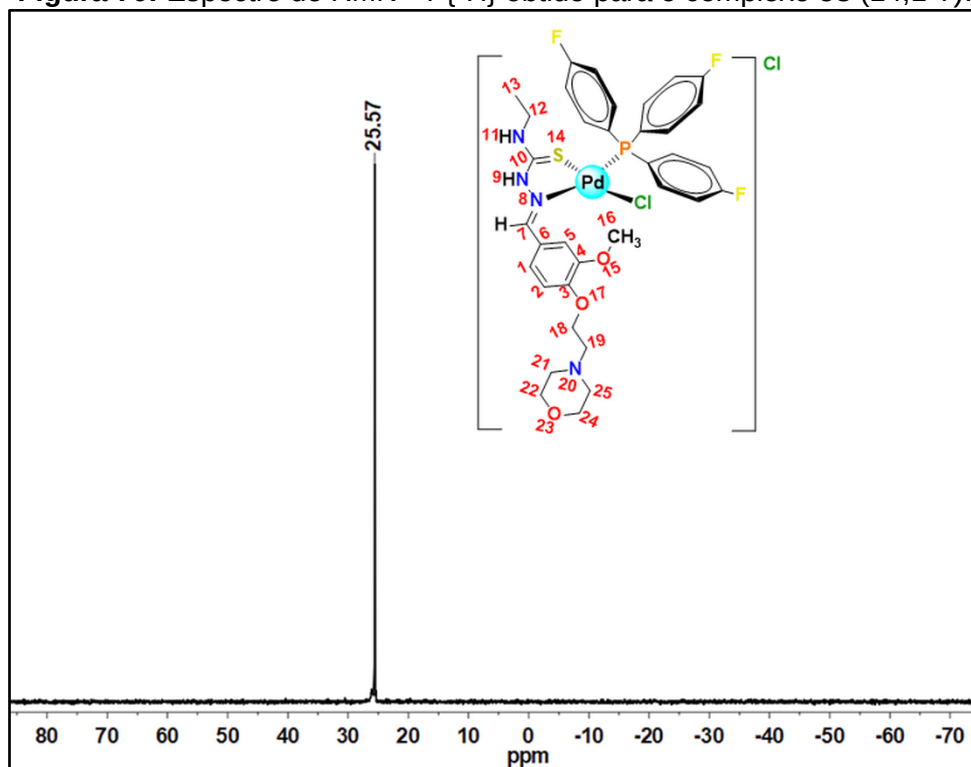
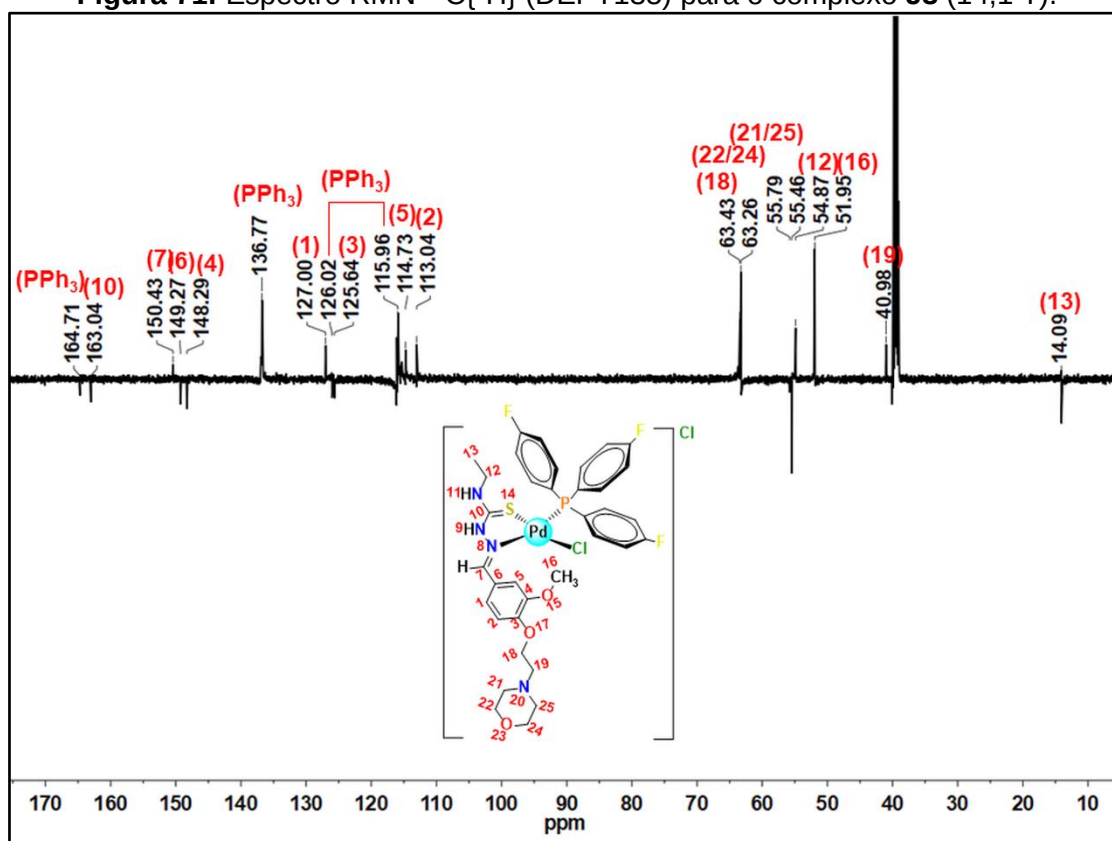
Figura 69: Espectro de RMN ^1H obtido para o complexo **J3** (14,1 T).**Figura 70:** Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo **J3** (14,1 T).

Figura 71: Espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) para o complexo **J3** (14,1 T).

O espectro de RMN ^1H obtido para o complexo **J3** apresenta sinais referentes aos hidrogênios tanto do ligante **L1** quanto do ligante fosfínico, em proporção 1:1, concordando com a esfera de coordenação proposta para o complexo. A presença do ligante fosfínico foi evidenciada pela caracterização de um sinal multipeto, com integração para 6 hidrogênios, em δ 7,71 e pelo sinal tripleto de dubletos em δ 7,41 ($J = 6$ Hz; $J = 12$ Hz), também com integração para 6 hidrogênios. A multiplicidade para os hidrogênios aromáticos do ligante fosfínico sofrem interferência pelo acoplamento destes núcleos com os substituintes flúor, o que pode ser observado no espectro do complexo **J3** [152,166]. Ainda, o sinal único singleto em δ 25,57 observado no espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ demonstra a presença de uma única espécie fosfínica na estrutura do complexo **J3**, onde o átomo de fósforo encontra-se coordenado ao íon Pd^{II} .

Assim como o observado para os demais complexos da família, identifica-se a ausência do sinal referente ao hidrogênio H20 da protonação do anel morfina no ligante **L1**. Essa condição pode justificar a baixa solubilidade do

complexo **J3** em água, quando comparada a do ligante **L1** livre. Ainda se observa a persistência do sinal referente ao hidrogênio hidrazínico (H9), onde o verifica-se um deslocamento desse sinal para menores frequências (δ 10,86), em comparação ao ligante **L1** (δ 11,37). Esse resultado indica uma coordenação na forma neutra para o ligante **L1**, levando a formação de um complexo catiônico, além do efeito de blindagem do sinal sobre o hidrogênio H9 pode indicar a ocorrência de retrodoação na coordenação do ligante ao íon Pd^{II}. Adicionalmente, observa-se o mesmo efeito de blindagem sobre o hidrogênio do grupo tioamida da porção tiossemicarbazona (**L1** H11 δ 8,48; **J3** H11 δ 7,58), reforçando a hipótese de retrodoação.

O mesmo efeito de desblindagem sobre os hidrogênios aromáticos H5 e H1 observado para os complexos **J1** e **J2**, são observados para o complexo **J3**. Para o ligante **L1** os sinais para os hidrogênios H1 e H5 foram identificados nas regiões de δ 7,26 e δ 7,48, respectivamente, enquanto para o complexo **J3** esses sinais foram caracterizados em δ 7,58 e δ 8,25 . O efeito de desblindagem pode indicar a alteração na estrutura do ligante **L1** oriunda da coordenação ao centro metálico, uma vez que esses hidrogênios se apresentam próximos ao núcleo coordenante na estrutura do ligante.

O espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DPTQ-135) obtido para o complexo **J3** apresentou o número de sinais em concordância com a estrutura inicialmente proposta para o complexo **J3**, onde os sinais para carbonos sp^3 e quaternários apresentam-se em sentido negativo. A caracterização dos sinais para os carbonos foi realizada a partir da análise dos mapas de contorno HSQC ^{13}C - ^1H e HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$.

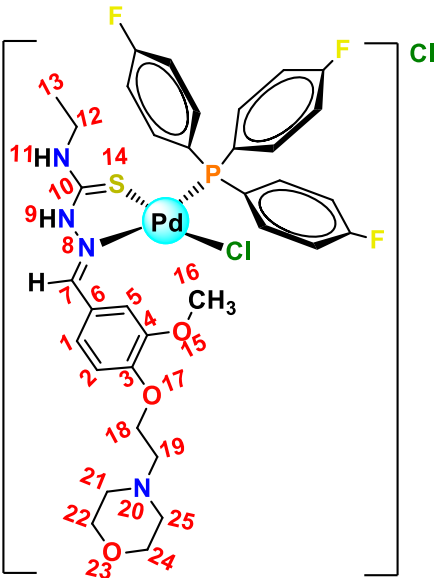
Nesse contexto destacam-se os sinais referentes aos carbonos C7 (grupo C=N) e C10 (tioamida), os quais estão diretamente ligados aos átomos de nitrogênio e enxofre coordenantes. O sinal para o carbono C7 foi identificado na região de δ 150,96, caracterizando um efeito de desblindagem deste núcleo em comparação ao ligante **L1** livre (C7 δ 141,89).

Diferentemente do ocorrido para os demais complexos, para o composto **J3** o sinal em sentido negativo na região de δ 164,22 foi atribuído ao carbono C10. Essa atribuição foi feita indiretamente por exclusão considerando a análise

das relações indiretas apresentadas no mapa de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$. O sinal para esse carbono, quando comparado ao ligante livre ($\delta 176,50$) é deslocado para menores frequências, caracterizando um efeito de blindagem sobre esse núcleo. Este efeito era esperado em função da formação da ligação S-Pd^{II} ocasionar um enfraquecimento da ligação C=S, caracterizando um caráter de ligação simples para este grupo em decorrência da coordenação.

Igualmente ao observado para os demais complexos da família, os sinais referentes aos carbonos dos grupos no ligante **L1** que se encontram mais afastados do núcleo coordenante (C2, C4, C3, C18, C19, C21, C22, C24 e C25), não sofreram deslocamentos significativos com relação ao ligante livre. Dessa forma, na **Tabela 19** são apresentados os dados e atribuições de RMN obtidos para o complexo **J3**.

Tabela 19: Dados de RMN caracterizados para o complexo **J3**

J3	Posição	$^1\text{H}(\delta)$; Multiplicidade; J [Hz]; $J(\text{Hz})$	$^{13}\text{C}(\delta)$
	1	7,58 <i>s</i> _{al} ; [1H]	127,00
	2	7,17 <i>d</i> ; [1H]; $J = 12$ Hz	113,04
	3	**	125,64
	4	**	148,29
	5	8,24; <i>s</i> _{al} ; [1H]	114,73
	6	**	149,27
	7	8,28; <i>d</i> ; [1H]; $J = 4,8$ Hz	150,43
	9	10,86; <i>s</i> _{al} ; [1H]	**
	10	**	163,04
	11	7,58; <i>d</i> _{al} ; [1H]	**
	12	3,59; <i>s</i> _{al} ; [2H];	54,87
	13	1,09; <i>t</i> ; [3H]; $J = 6$ Hz e $J = 12$ Hz	14,09
	16	3,80; <i>s</i> ; [3H]	51,95
	18	4,50; <i>t</i> ; [2H]; $J = 6$ Hz	63,43
	19	3,27; <i>It+dd</i> ; [2H]; $J = 6$ Hz	40,98
	20	**	**
	21	3,54; <i>d</i> _{al} ; [2H]; $J = 12$ Hz	55,79
	22	3,97; <i>d</i> _{al} ; [2H]; $J = 12$ Hz	63,26
	24	3,78; <i>d</i> _{al} ; [2H]; $J = 12$ Hz	63,26
	25	3,24; <i>t</i> _{al} ; [2H]; $J = 6$ Hz	55,79
	^{31}P	25,57	**
	H_{ph}		164,71;
		7,74-7,69; <i>m</i> ; [6H]	136,77;
		7,41; <i>td</i> ; [6H]; $J = 6$ Hz	136,77;
			126,02;
			115,96

Os espectros de RMN ^1H , $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) coletados para o complexo **J4**, e o sistema de numeração adotado para a caracterização, são apresentados nas **Figuras 72, 73 e 74**. Os mapas de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtidos e analisados são apresentados nos **Anexos 21 e 22**.

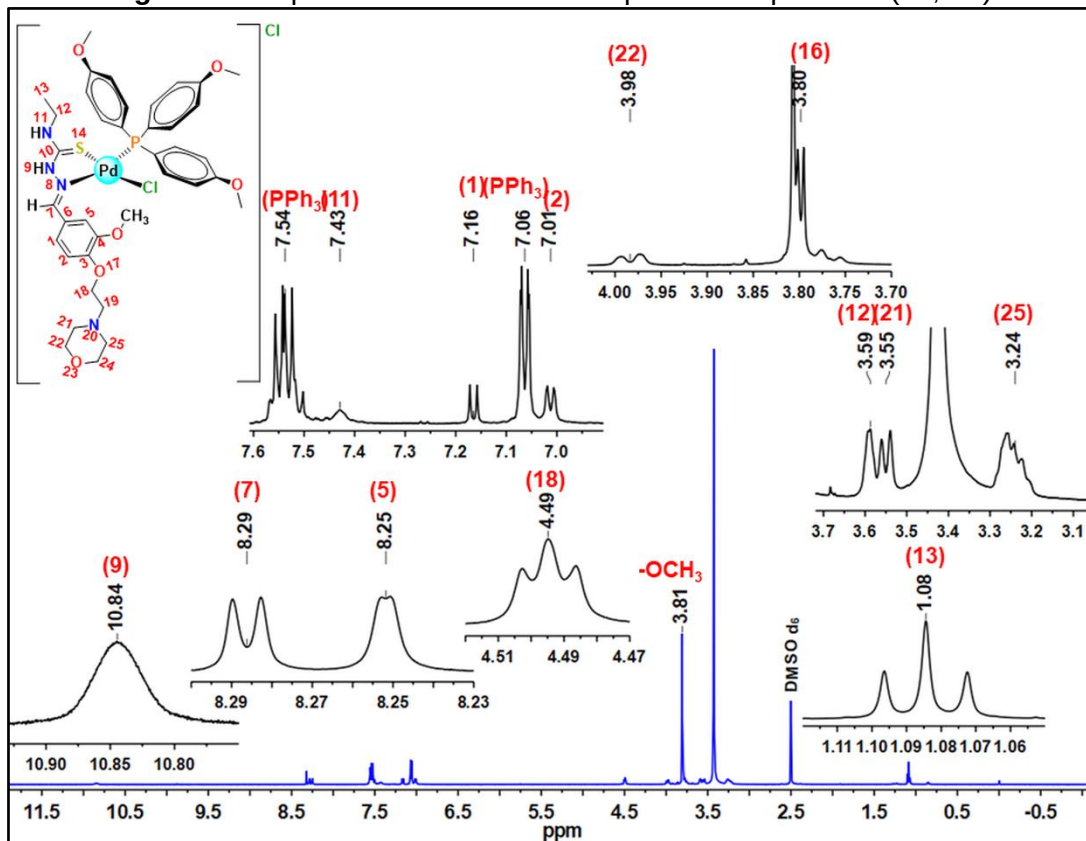
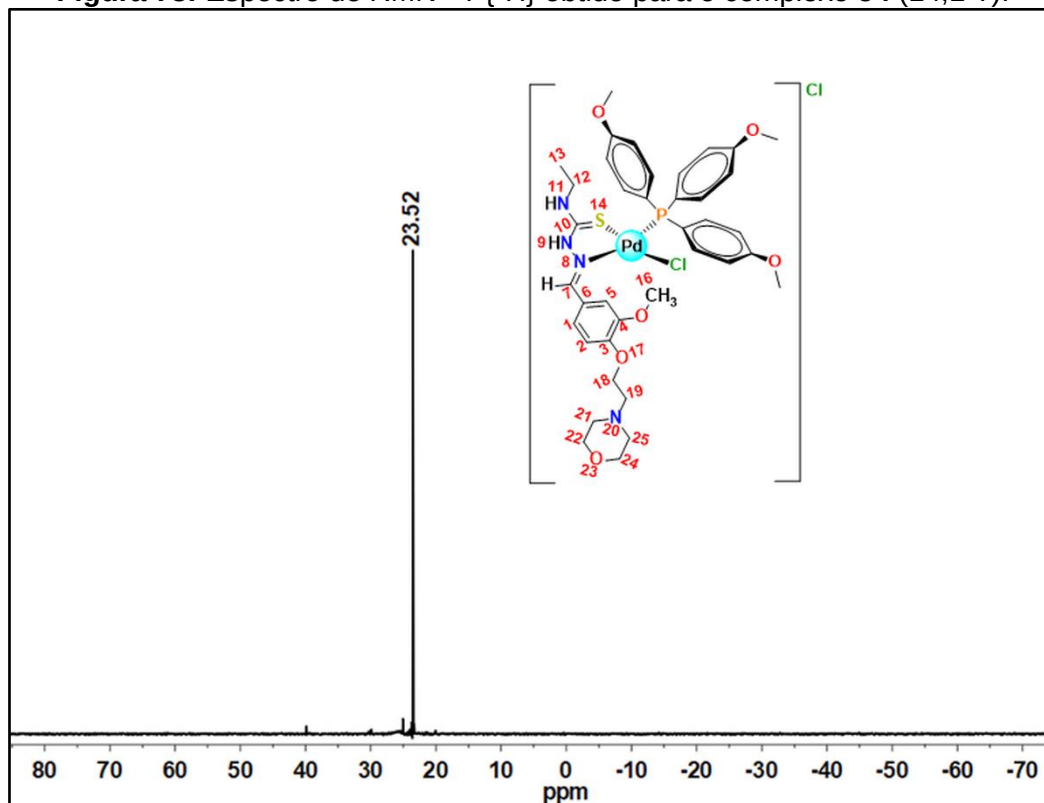
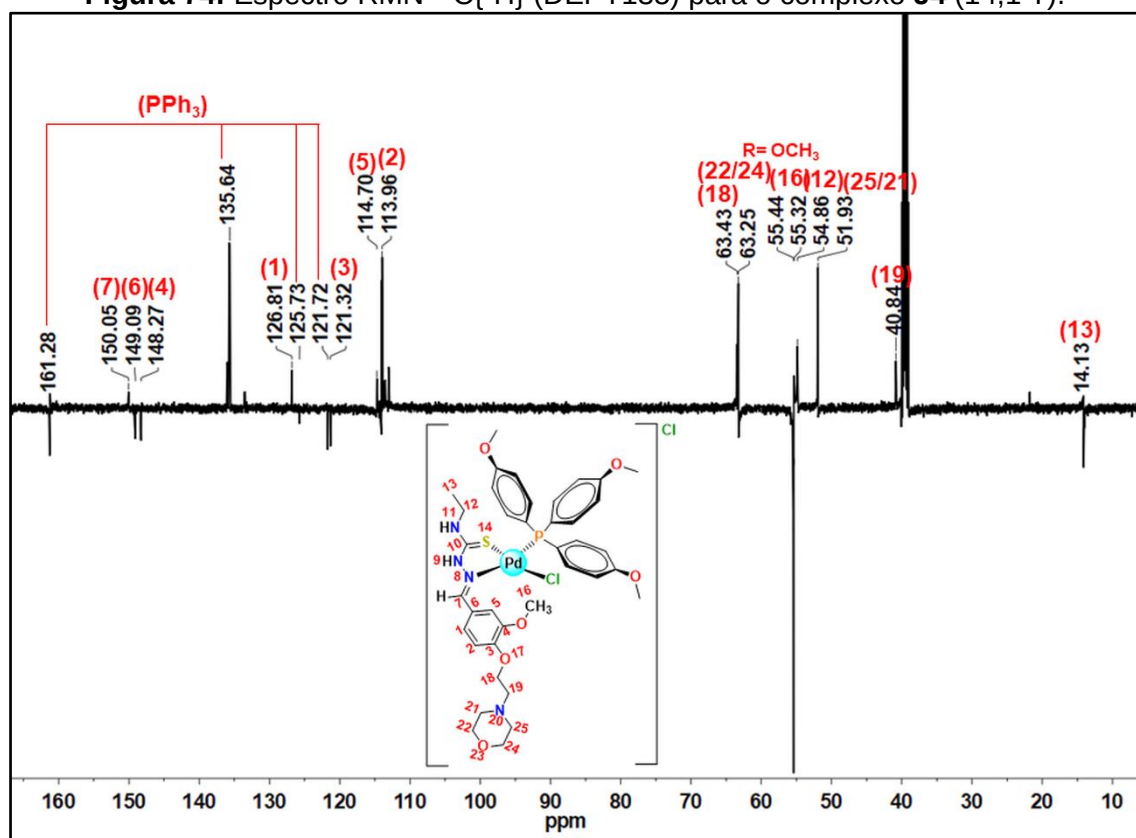
Figura 72: Espectro de RMN ^1H obtido para o complexo **J4** (14,1 T).Figura 73: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo **J4** (14,1 T).

Figura 74: Espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DEPT135) para o complexo **J4** (14,1 T).

No espectro obtido para o complexo **J4** foram identificados tanto os sinais referentes aos hidrogênios do ligante **L1**, quanto ao ligante fosfínico, em proporção equimolar, o que pode confirmar a estrutura proposta para o complexo. A presença do ligante fosfínico foi evidenciada pelos sinais multipletos em δ 7,57, com integração para 7 hidrogênios, e o dupletos de dupletos em δ 7,06 ($J = 12$ Hz). Além disso, caracterizou-se o singlete em δ 3,81, com integração para 9 hidrogênios, como sendo pertencente ao substituinte metoxila dos anéis fenila do ligante fosfínico. Esse sinal em específico apresentou-se bastante próximo ao sinal referente aos hidrogênios do substituinte metoxila do anel aromática da porção vanilina (δ 3,80), em função da similaridade de ambiente químico entre esses grupos. Ainda a coordenação do ligante fosfínico pode ser evidenciada pelo aparecimento de um único sinal singlete no espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, na região de δ 23,52.

Assim como o observado para os demais complexos da família, identificou-se a ausência do sinal referente ao hidrogênio H20 da protonação do

anel morfolina no ligante **L1**. Essa condição concorda com o desaparecimento da banda referente ao estiramento do grupo R_3N^+-H nos espectros IV, podendo justificar a diminuição da solubilidade em água observado para o complexo **J4**, em comparação ao ligante **L1** livre.

O sinal para o hidrogênio hidrazínico (H9) foi identificado no espectro obtidos para o complexo **J4** na região de δ 10,84. O não desaparecimento deste sinal pode indicar a coordenação do ligante **L1** na forma neutra, levando a formação de um complexo catiônico. Adicionalmente, o efeito de blindagem desse hidrogênio, identificado pelo deslocamento do sinal para menores frequências com relação ao ligante **L1** livre (δ 11,37), pode indicar um deslocamento de carga do centro metálico para o ligante, caracterizando um efeito de retrodoação. Reforçando a hipótese da ocorrência de retrodoação, observa-se igualmente um efeito de blindagem do hidrogênio da função tioamida (H11), onde esse sinal foi deslocado de δ 8,48, para o ligante **L1** livre, para δ 7,53 no complexo **J4**.

Semelhante ao observado para os demais complexos, identificou-se um efeito de desblindagem sobre o hidrogênio aromáticos H5, onde o sinal para esse hidrogênio foi deslocado de δ 7,48 no ligante **L1** para δ 8,25 no complexo **J4**. Esse efeito de desblindagem próximo a região coordenante do ligante **L1** pode indicar a coordenação do átomo de nitrogênio do grupo $C=N$, o que causa perturbações nos núcleos próximos.

Os sinais identificados no espectro de RMN $^{13}C\{^1H\}$ (DPTQ-135) estão de acordo com o número de carbonos segundo a estrutura proposta para o complexo **J4**, onde os sinais em sentido negativo se referem aos carbonos sp^3 e quaternários. A caracterização dos sinais para os carbonos foi realizada a partir da análise dos mapas de contorno HSQC $^1H-^{13}C\{^1H\}$ e HMBC $^1H-^{13}C\{^1H\}$.

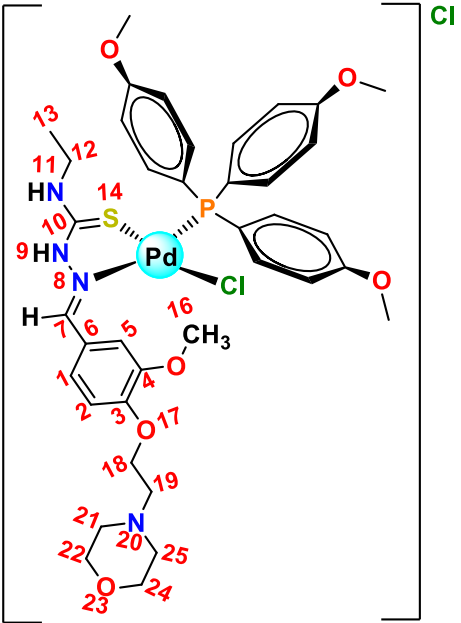
O sinal referente ao carbono quaternário C7, do grupo $C=N$, é deslocado para maiores frequências, sendo identificado na região de δ 141,89 para o ligante **L1** e em δ 150,05 para o complexo **J4**. Essa condição pode indicar a desblindagem desse núcleo em função da coordenação do átomo de nitrogênio ao íon Pd^{II} , o que faz com que a densidade eletrônica seja deslocada em direção ao centro metálico, desblindando o carbono C7.

Assim como o observado para os complexos **J1** e **J2**, o sinal para o carbono da função tioamida (C=S) não foi identificado no espectro obtido para **J4**. Dessa forma, considerando a ocorrência do efeito de blindagem, esse sinal deveria ocorrer em regiões de menores frequências, o que não foi contemplado pelos experimentos realizados em função do tempo de relaxação deste núcleo.

Pela análise das correlações a longa distância no mapa de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, os sinais para os hidrogênios do ligante fosfínico se correlacionam aos sinais em δ 161,28, δ 135,64, δ 126,81 e δ 121,72. Em específico o sinal mais desblindado do espectro (δ 161,28) apresenta-se em sentido negativo, podendo ser atribuído aos carbonos quaternários do ligante fosfínico diretamente ligados aos substituintes metoxila nos anéis fenila.

Como o observado para os demais complexos, os sinais referentes aos carbonos dos grupos no ligante **L1** que se encontram mais afastados do núcleo coordenante (C2, C4, C18, C19, C21, C22, C24 e C25), não sofreram deslocamentos significativos com relação ao ligante livre. Dessa forma, na **Tabela 20** são apresentados os dados e atribuições de RMN obtidos para o complexo **J3**.

Tabela 20: Dados de RMN caracterizados para o complexo J4.

J4	Posição	$^1\text{H}(\delta)$; Multiplicidade; J [Hz]; $J(\text{Hz})$	$^{13}\text{C}(\delta)$
	1	7,43; <i>s</i> _{al} ; [1H]	126,81
	2	7,16; <i>d</i> ; [1H]; $J = 6$ Hz	113,52
	3	**	121,32
	4	**	148,27
	5	8,25; <i>s</i> _{al} ; [1H]	114,70
	6	**	149,09
	7	8,29; <i>d</i> ; [1H]; $J = 4,8$ Hz	150,05
	9	10,84; <i>s</i> _{al} ; [1H]	**
	10	**	nd.
	11	7,43; <i>s</i> _{al} ; [1H]	**
	12	3,59; <i>s</i> _{al} ; [2H];	54,86
	13	1,08; <i>t</i> ; [3H]; $J = 6$ Hz e $J = 12$ Hz	14,13
	16	3,80; <i>s</i> ; [3H]	55,32
	18	4,49; <i>t</i> ; [2H]; $J = 6$ Hz	63,43
	19	3,24; <i>m</i> ; [4H];	40,84
	20	**	**
	21	3,55; <i>d</i> _{al} ; [2H]; $J = 12$ Hz	51,93
	22	3,98; <i>d</i> _{al} ; [2H]; $J = 12$ Hz	63,25
	24	3,77; <i>d</i> _{al} ; [2H]; $J = 12$ Hz	63,25
	25	3,24; <i>t</i> _{al} ; [4H]; $J = 6$ Hz	51,93
^{31}P		23,52	**
H_{ph}		7,56-7,52; <i>m</i> ; [7H] 7,07; <i>dd</i> ; [5H]; $J = 12$ Hz	161,28; 135,64 125,73; 121,72
$\text{R} = \text{OCH}_3$		3,81; <i>s</i> _{al} ; [9H]	55,44

6.3 Estudo da ação antitumoral dos compostos

Após a síntese e caracterização, o perfil de ação antitumoral preliminar dos compostos foi avaliado. Para isso, inicialmente foi verificada a estabilidade em solução dos complexos e em sequência foram realizados ensaios da ação

antitumoral, atividade antiproliferativa frente a células tumorais e normal, determinação da lipofilicidade e a interação dos compostos mais ativos com biomoléculas (DNA e HSA).

Estudo da estabilidade em solução para os complexos

Considerando a natureza química diversa das ligações coordenadas em comparação a ligações covalentes, pode-se inferir diferenças na estabilidade de moléculas orgânicas e complexos metálicos, quando se leva em conta o contexto da aplicação medicinal desses compostos. Ligações coordenadas apresentam-se mais fracas em comparação a ligações covalentes, uma vez que nesse tipo de ligação temos uma contribuição equivalente do caráter iônico e covalente [206]. Essa condição fica evidente ao se comparar a faixa de energia de uma ligação coordenada típica (50-150 KJ/mol) com a energia de uma ligação C-C (300-400 KJ/mol) [207]. Dessa forma, quando se investiga o perfil farmacológico de complexos metálicos, deve-se avaliar se a espécie mantém sua integridade, considerando inicialmente os ensaios *in vitro* e posteriormente *in vivo* [208]. Nesse contexto, a integridade de um complexo metálico é considerada quando não são verificadas alterações no núcleo coordenante da espécie, com a saída ou troca de ligantes nas condições dos experimentos.

Considerando a baixa solubilidade em água apresentada pelos complexos, para o ensaio de avaliação da atividade antiproliferativa os compostos são solubilizados inicialmente em dimetilsulfóxido (DMSO) em quantidade segura desse solvente, a qual não seja prejudicial as células. O solvente DMSO apresenta natureza coordenante, em função dos elétrons isolados no átomo de enxofre, o tornando um sítio de ligação [209]. Assim, a solubilização dos complexos nesse solvente pode fazer com que ocorram trocas de ligantes na esfera de coordenação dos compostos, originando outras espécies.

Por essa razão e visando a avaliação da estabilidade em solução dos compostos, foram coletados espectros de RMN ^1H e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para os complexos **J1-4** e para os ciclopaladados **JC1-4**, em DMSO- d_6 , nos tempos de 0, 24 e 48 h.

Os tempos foram selecionados tendo em vista o período de incubação usualmente aplicado aos ensaios de viabilidade celular. Dessa forma, são apresentados nas **Figuras 75, 76, 77 e 78** os espectros de RMN ^1H e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do experimento de estabilidade em solução, dos compostos **JC1** e **J1**, selecionados como representativos das duas famílias de compostos. Os espectros para o experimento de estabilidade coletados para os demais compostos são apresentados nos **Anexos 23 e 34**.

Figura 75: Espectro de RMN ^1H coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o ciclopalladado **JC1** (14,1 T).

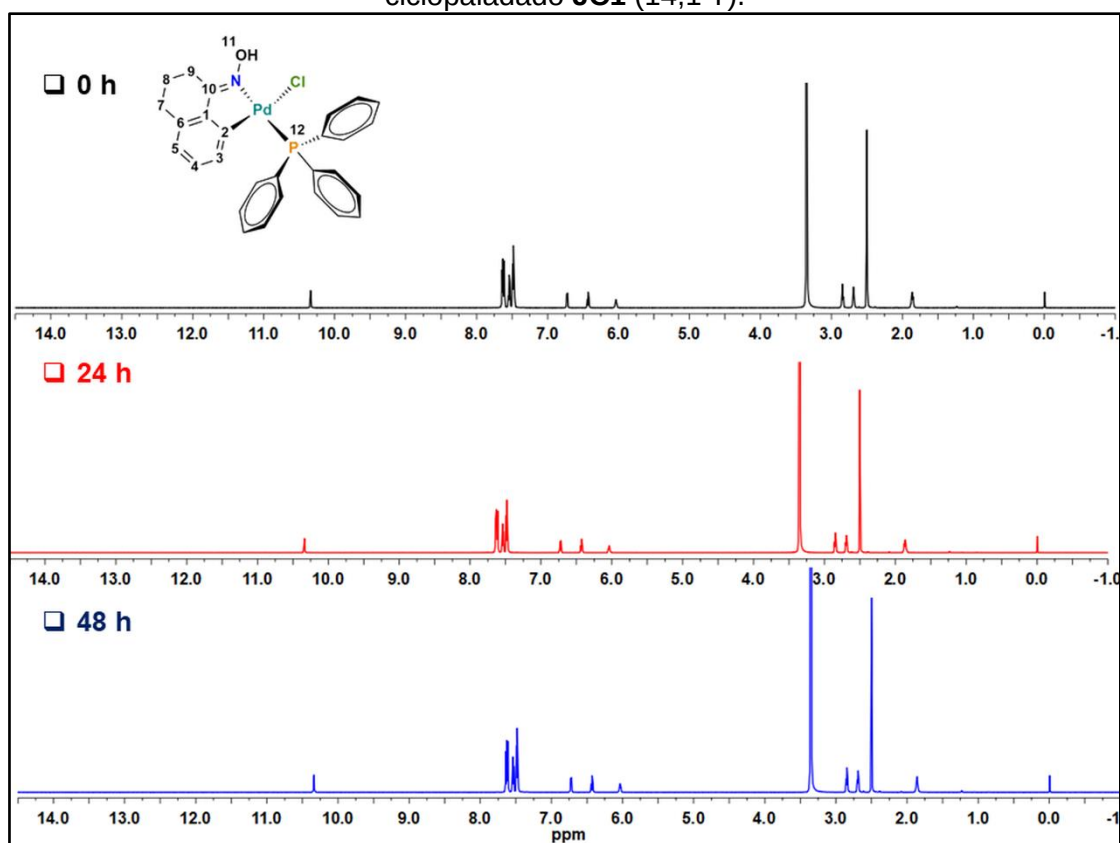


Figura 76: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o ciclopalladado **JC1** (14,1 T).

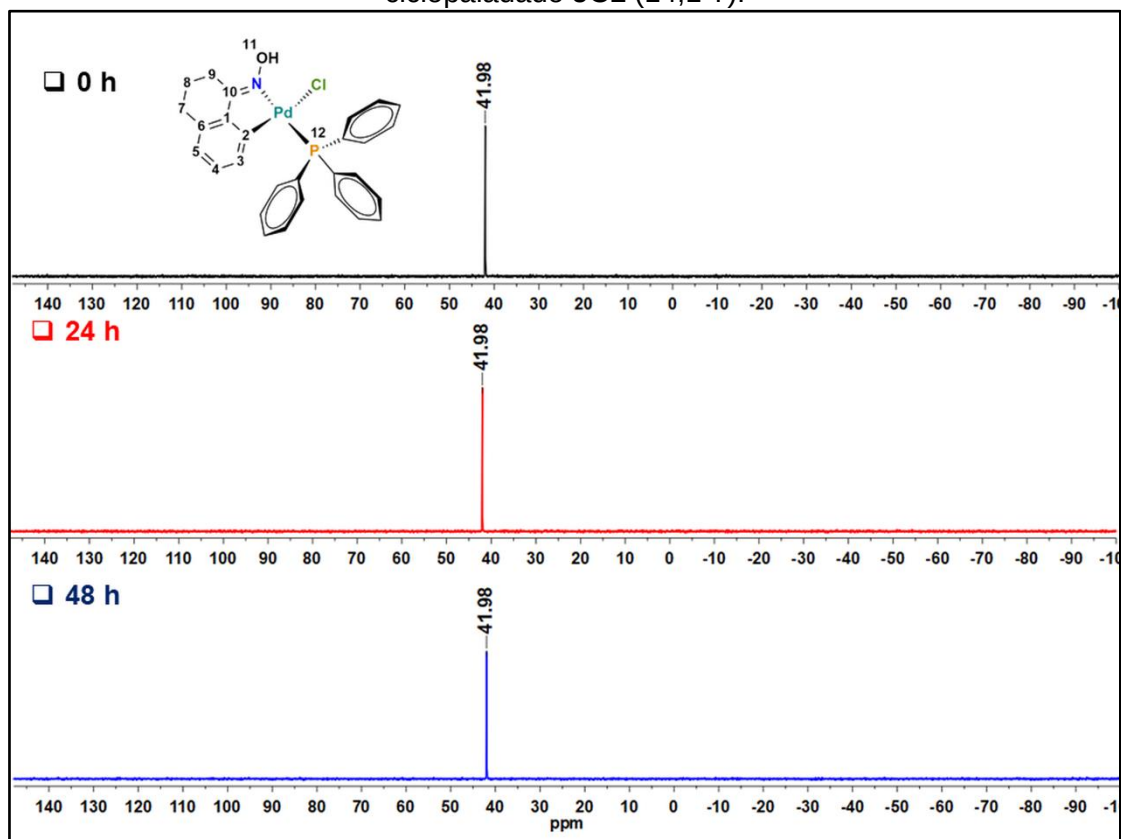


Figura 77: Espectro de RMN ^1H coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o ciclopalladado **J1** (14,1 T).

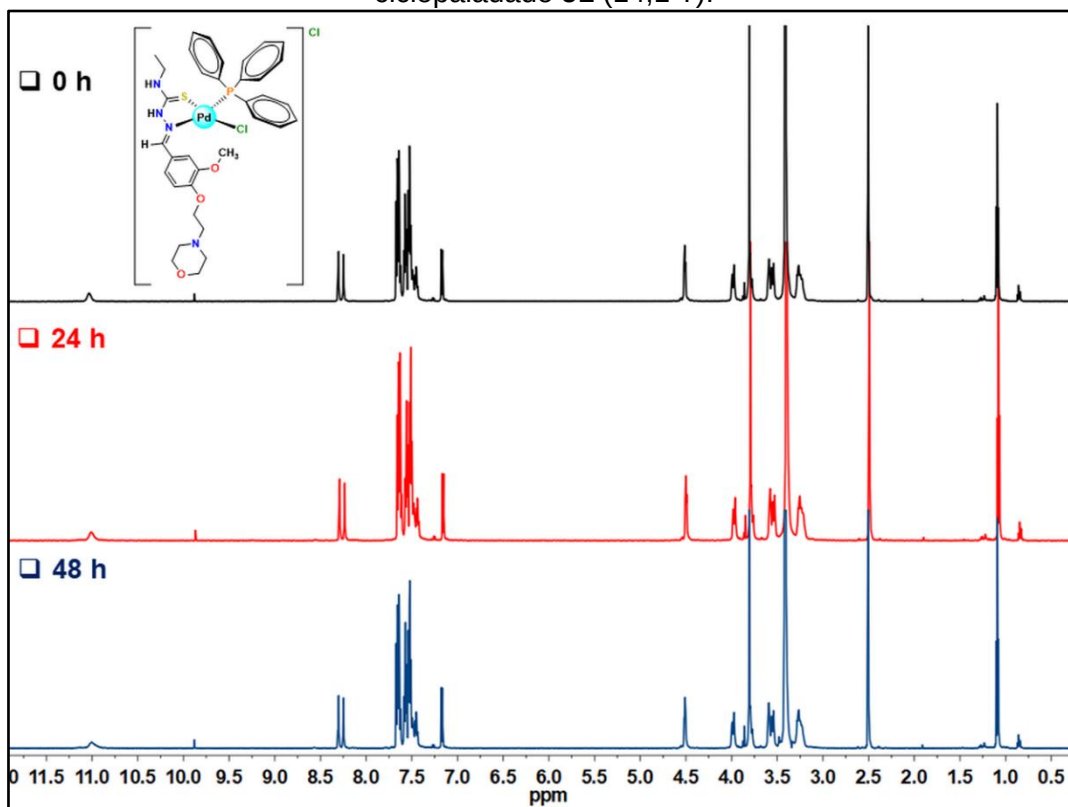
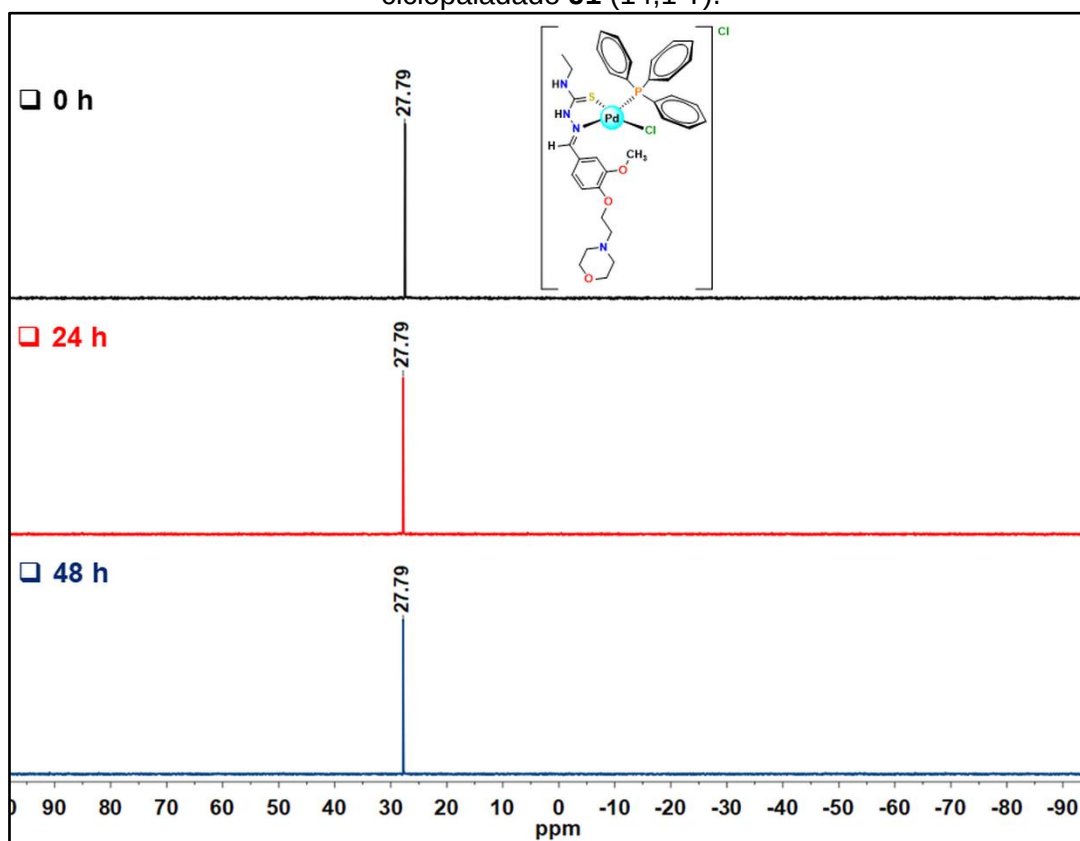


Figura 78: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o ciclopaladado **J1** (14,1 T).



Como pode-se observar pelos espectros apresentados, não foram identificadas alterações ou deslocamentos significativos dos sinais caracterizados para os compostos. Igualmente não foi identificado o surgimento ou desaparecimento de sinais nos espectros de RMN ^1H , podendo indicar que não foram formadas novas espécies em solução. Ainda, em específico para os espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, a persistência do sinal referente ao átomo de fósforo coordenado, demonstra que não houve a descoordenação do ligante fosfínico nas estruturas. Por essas considerações, pode-se estabelecer que os compostos se mostraram estáveis no período avaliado, o que os torna adequados aos ensaios de viabilidade celular.

Atividade antiproliferativa (MTT)

A avaliação da atividade antiproliferativa frente a células tumorais e não tumorais representa um dos ensaios preliminares *in vitro* para novos compostos candidatos a fármacos antitumorais. Existem diversos bioensaios aplicados para

essa finalidade, onde avalia-se a influência do composto em estudo sob o crescimento celular de diversas linhagens [210]. Dentre esses ensaios, o ensaio de viabilidade MTT {brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol]} tem sido amplamente aplicado na avaliação de compostos, em especial para o estudo do perfil biológico de complexos metálicos [55,102,211–214]. Esse ensaio colorimétrico baseia-se na redução do reagente MTT em cristais de formazan pelas células metabolicamente viáveis, ou seja, células que apresentam atividade mitocondrial, após o período de incubação com a substância em estudo. Os cristais de formazan formados precipitam em meio aquoso, em função da insolubilidade, sendo extraídos por solventes orgânicos e quantificados [210].

Uma célula em presença de um xenobiótico, pode ter sua atividade metabólica interrompida tanto pela ação citotóxica quanto pela ação citostática dessa substância. Agentes citotóxicos desencadeiam mecanismos que levam a morte celular. Um composto que apresenta ação citostática tem a habilidade de inibir o crescimento celular sem causar a morte da célula [215,216]. Dessa forma, quando se avalia o número de células metabolicamente viáveis pelo ensaio de MTT, não se pode fazer a distinção entre o comportamento citostático e citotóxico do composto em estudo, sendo necessária a realização de ensaios complementares. Ainda, os comportamentos citotóxico e citostático não são excludentes, podendo haver a ocorrência de ambos na ação do composto [217–219].

Assim, após a verificação da estabilidade em solução, a atividade antiproliferativa dos ciclopaladados **JC1-4**, do ligante **L1** e dos complexos **J1-4**, foi avaliada frente a linhagens tumorais e uma linhagem de fibroblastos de pulmão humano (MRC-5). Para os ciclopaladados, a ação antiproliferativa foi investigada frente a 2 linhagens de adenocarcinomas humanos, MCF-7 (mama) e A549 (pulmão). Já para o ligante **L1** e para os complexos **J1-4**, além das linhagens testadas para os compostos ciclopaladados, foi avaliada a ação antiproliferativa frente a células da linhagem MDA-MB-231 (mama) e DU-145 (próstata). A cisplatina foi utilizada como fármaco de referência para os experimentos, servindo como padrão comparativo. Os ensaios com as linhagens

MCF-7 e MDA-MB-231 para o ligante **L1** e para os complexos **J1-4** foram realizados em parceria com o Prof. Dr. Sérgio de Albuquerque e a Dra. Zumira A. Carneiro FCFRP-USP.

A partir dos experimentos de MTT foram obtidos os valores de concentração inibitória mínima (IC₅₀) para cada composto frente as linhagens celulares avaliadas. Com os valores de IC₅₀ para as linhagens A549 e MRC-5, foram determinados os índices de seletividade (SI) pela razão IC₅₀ MRC-5/ IC₅₀ A549. Tanto os valores de IC₅₀ quanto de SI obtidos para os compostos são apresentados na **Tabela 21**.

Tabela 21: Valores de IC₅₀ obtidos pelo ensaio de MTT para os compostos **JC1-4**, **L1**, e **J1-4**, frente as linhagens tumorais MCF-7 (mama), MDA-MB-231 (mama), A549 (pulmão) e a linhagem não tumoral MRC-5 (pulmão). Os índices de seletividade SI foram calculados pela relação IC₅₀ MRC-5/IC₅₀ A549.

Composto	IC ₅₀ (μM)				SI (MRC-5/A549)
	MCF-7	MDA-MB-231	A549	MRC-5	
JC1	19,22 ± 2,75	**	>80	22,35 ± 1,74	0,279
JC2	26,33 ± 0,27	**	49,35 ± 0,75	28,92 ± 0,17	0,586
JC3	22,39 ± 0,38	**	48,19 ± 0,36	25,78 ± 0,58	0,534
JC4	22,91 ± 1,90	**	79,75 ± 2,69	8,12 ± 0,49	0,101
Cisplatina*	>50	**	23,36 ± 0,42	19,86 ± 1,22	0,850
L1	97,9 ± 3,27	71,34 ± 3,69	1,82 ± 0,10	> 100	54,00
J1	39,17 ± 9,63	66,35 ± 0,74	1,51 ± 0,11	26,20 ± 1,16	17,35
J2	48,87 ± 9,37	58,91 ± 4,93	3,20 ± 0,15	24,21 ± 0,18	7,56
J3	38,14 ± 4,03	68,80 ± 3,54	1,74 ± 0,10	29,16 ± 0,69	16,75
J4	41,10 ± 6,21	67,87 ± 2,76	2,64 ± 0,65	9,62 ± 1,51	3,64
Cisplatina**	60,58 ± 4,63	61,59 ± 3,02	23,36 ± 0,42	12,05 ± 0,98	1,93

* valores de IC₅₀ obtidos no laboratório de cultivo celular do departamento de Química Analítica, físico Química e Inorgânica.

**valores de IC₅₀ obtidos em colaboração com o Prof. Dr. Sérgio de Albuquerque do Depto. de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas.

Os valores de IC₅₀ obtidos para os compostos ciclopaladados **JC1-4** frente as linhagens celulares avaliadas mostraram-se similares, estando em uma mesma ordem de grandeza. Para a linhagem celular tumoral MCF-7, todos os compostos mostraram maior atividade inibitória em comparação a cisplatina, onde os valores de IC₅₀ ficaram na faixa de 19,22 a 26,33 μM (cisplatina [IC₅₀ >50 μM]). Esse resultado pode estar relacionado a aspectos cinéticos dos mecanismos de trocas de ligantes nas esferas de coordenação quadráticas plana de compostos de Pd^{II} e Pt^{II}. A combinação de ligantes volumosos

derivados de trifenilfosfina e do ligante quelante oxima ortometalado pode ter, como o proposto no planejamento estrutural dos compostos, aumentado a estabilidade cinética dos ciclopaladados no meio celular, fazendo com que esses mantivessem a sua estrutura intacta para a interação com os possíveis alvos biológicos [220]. Os valores de IC_{50} obtidos para os compostos **JC1-4** frente à linhagem MCF-7 estão de acordo com valores reportados para outros compostos ciclopaladados [221–223].

Em contrapartida, os valores de IC_{50} apresentados pelos ciclopaladados **JC1-4** frente a células tumorais A549 [IC_{50} 48,19 μ M a 80,00 μ M], demonstraram que essa linhagem se apresenta menos sensível aos compostos em comparação a cisplatina [IC_{50} 23,36 μ M]. Resultados semelhantes tem sido apresentados na literatura para compostos ciclopaladados frente a linhagem A549, como o trabalho de Albert, J.; *et al*, onde, compostos ciclopaladados derivados de aminas primárias apresentaram maiores valores de IC_{50} em comparação a Cisplatina [IC_{50} 100 a 18 μ M] [222]. Outros trabalhos demonstram o mesmo comportamento para compostos ciclopaladados, o que pode demonstrar uma tendência de menor atividade inibitória frente a linhagem A549 para esses compostos [224,225]. No que se refere a relação estrutura/atividade dos compostos **JC1-4**, pelos resultados obtidos com as linhagens tumorais, a substituição em posição *para* nos anéis fenila do ligante trifenilfosfina, para esse sistema, não influiu significativamente na ação antiproliferativa apresentada.

A linhagem de fibroblastos de pulmão, MRC-5, foi selecionada para investigar o comportamento dos compostos frente a células não tumorais e ainda avaliar a seletividade frente a linhagem tumoral A549. De acordo com os valores de IC_{50} obtidos para os ciclopaladados **JC1-4** para essa linhagem, os compostos apresentaram baixa seletividade entre as células tumorais e não tumorais, apresentando melhor ação antiproliferativa frente a linhagem MRC-5 [IC_{50} 8,12 μ M a 28,92 μ M]. Apesar disso, estudos recentes têm reportado a possível associação de fibroblastos ao crescimento e proliferação de células tumorais, pela produção de fatores de crescimento, como por exemplo EG, FGF2, PDGF- α/β , VEGF-A/C, HGF e CTGF. Adicionalmente, os fibroblastos podem aumentar a vascularização (neoangiogênese), melhorando a rigidez e resistência de

células tumorais [226,227]. Essa nova abordagem da ação de compostos com foco no ambiente tumoral extracelular abre novas possibilidades de investigação quanto a atividade antiproliferativa de compostos frente a linhagem MRC-5, vindo ao encontro do contexto de que compostos ciclopaladados podem induzir diferentes mecanismos de morte celular, quando comparado a cisplatina e complexos de Pt^{II} [228–231]. Dessa forma, novos experimentos com os ciclopaladados **JC1-4** devem ser feitos para averiguar essa proposição.

É proposto que compostos que apresentam valores de IC_{50} menores do que 10 μM frente a linhagens tumorais são considerados promissores agentes antineoplásicos. Ainda, substâncias que apresentam índice de seletividade (SI) superiores a 3, são apontadas como seletivas a linhagem tumoral em estudo [232]. Neste contexto, pelos valores de IC_{50} obtidos para o ligante **L1** e para os complexos **J1-4**, pode-se observar que esses compostos não apresentaram atividade significativa frente às células tumorais de mama (MCF-7 [IC_{50} 38,10 μM a 100 μM] e MDA-MB-231 [IC_{50} 58 μM a 71,34 μM]), apesar de mostrarem-se mais ativos em comparação a cisplatina, com exceção do ligante **L1** (MCF-7 [IC_{50} 100 μM] e MDA-MB-231 [IC_{50} : 71,34 μM]). Entretanto, quando analisados os valores de IC_{50} obtidos para a linhagem tumoral de pulmão, A549 [IC_{50} 1,51 μM a 3,20 μM], e não tumoral, MRC-5 [IC_{50} 9,62 μM a 100 μM], observa-se uma elevada ação inibitória e seletividade dos compostos.

Para a linhagem A549, os valores de IC_{50} obtidos tanto para o ligante **L1** quanto para os complexos **J1-4**, são da mesma ordem de grandeza, o que pode indicar uma relação direta da atividade inibitória apresentada pelos complexos com a presença do ligante tiossemicarbazona. A contribuição de ligantes tiossemicarbazonas na atividade de seus complexos derivados frente à linhagem A549, foi igualmente reportado por Farias, *et al*, para complexos de $Ni(II)$ contendo ligantes cinamaldeído-tiossemicarbazona (*trans*-cinamaldeído-*N*(4)-etil-tiossemicarbazona [IC_{50} 2,31 μM]; complexo $Ni(II)$ derivado [IC_{50} 1,06 μM] [54]. Essa observação pode indicar que o ligante **L1** representa um grupo farmacofórico na estrutura dos complexos **J1-4**, sendo fundamental para a atividade frente a linhagem A549 e que, em contrapartida, os ligantes fosfínicos

podem não estar diretamente associados a ação antitumoral dos compostos, funcionando como grupos auxiliares

Entre os complexos, com respeito a relação estrutura/atividade, os compostos **J1** e **J3**, que apresentam os ligantes trifenilfosfina e *p*-flúor-trifenilfosfina, apresentaram ação antiproliferativa semelhante frente as 4 linhagens avaliadas. Ainda, ambos os complexos se apresentaram como os mais seletivos frente à linhagem tumoral A549, com índices de seletividade de 17,35 para o complexo **J1** e 16,75 para o complexo **J3**. Esses resultados podem indicar que a substituição na posição *para*, dos anéis fenila no ligante trifenilfosfina por grupos retiradores de elétrons, para esse sistema, não interfere na ação inibitória, podendo estar envolvido um mecanismo de ação antiproliferativa semelhante para esses complexos.

Analisando os resultados para os complexos **J2** e **J4**, que apresentam os ligantes *p*-toluifosfina e *p*-metoxifosfina, observam-se maiores valores de IC₅₀ frente às linhagens celulares tumorais avaliadas dentre os complexos da família. Ainda, observam-se, para esses compostos, os menores valores de IC₅₀ para a linhagem MRC-5, levando a menores valores de índice de seletividade (**J2** [SI 7,56]; **J4** [SI 3,64]. Esses resultados podem demonstrar que a substituição na posição *para* dos anéis fenila do ligante trifenilfosfina, por grupos ativantes como metil e metoxila, pode estar associada a uma menor ação inibitória e menor seletividade frente às células tumorais A549.

Como discutido, os compostos **J1-4** juntamente com o ligante **L1** demonstraram promissora atividade antiproliferativa frente a linhagem A549 e ação pouco significativa frente as linhagens tumorais de mama avaliadas. Sob esses resultados e buscando verificar se de fato os compostos apresentam ação inibitória seletiva às células tumorais de pulmão em detrimento de células de outros tecidos, a atividade antiproliferativa do complexo **J1** foi testada frente à linhagem tumoral de próstata DU-145. O complexo **J1** foi selecionado como representativo da série de compostos para esse ensaio em função de apresentar-se o mais ativo para a linhagem A549 dentre os complexos e com ação inibitória semelhante ao ligante **L1** para essa mesma linhagem. Os valores

de IC₅₀ obtido para o complexo **J1** frente à linhagem DU-145, em comparação as demais linhagens testadas, são apresentados na **Tabela 22**.

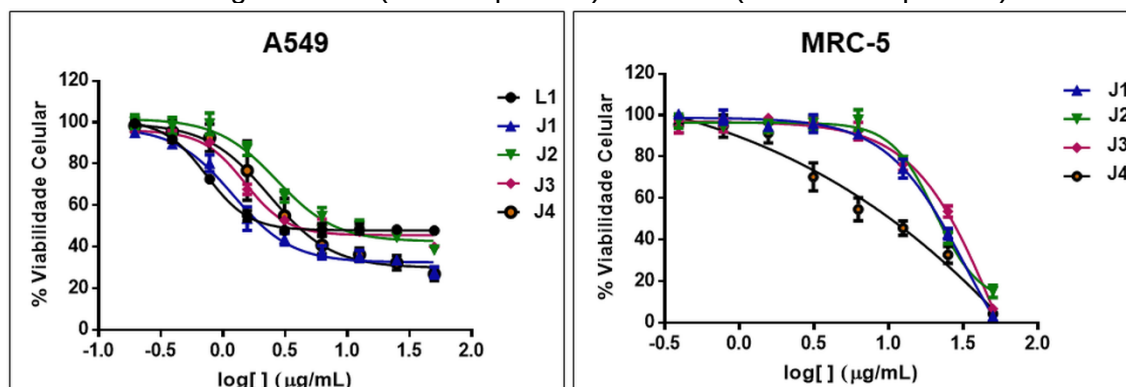
Tabela 22: Valores de IC₅₀ do complexo **J1** obtidos para as linhagens tumorais MCF-7 (mama), MDA-MB-231 (mama), A549 (pulmão), DU-145 (próstata), para a linhagem não tumoral MRC-5 (pulmão) e SI (IC₅₀ MRC-5/IC₅₀ A549).

Comp.	IC ₅₀ (μM)					SI (MRC-5/A549)
	DU-145	MCF-7	MDA-MB-231	A549	MRC-5	
J1	27,43 ± 0,98	39,17 ± 9,63	66,35 ± 0,74	1,51 ± 0,11	26,20 ± 1,16	17,35

Comparando os valores de IC₅₀ para **J1** apresentados na **Tabela 22**, em especial para a linhagem DU-145, novamente o composto apresentou baixa e discrepante ação inibitória em comparação a apresentada para a linhagem A549. Esse resultado pode reforçar a ideia de especificidade da ação inibitória dos compostos da série com relação a linhagem A549.

Analisando-se e comparando as curvas de viabilidade celular obtidas frente às células A549, para o ligante **L1** e os complexos **J1-4**, observa-se que não ocorre uma modificação significativa da viabilidade celular na faixa de concentração entre 50 e 3 μg/mL. Já para a linhagem não tumoral MRC-5, verifica-se um comportamento dose/resposta, com a alteração da viabilidade celular em função do aumento ou diminuição da concentração desses compostos, conforme é apresentado nos gráficos de viabilidade celular da **Figura 79**.

Figura 79: Gráficos de viabilidade celular obtidas para os compostos **J1-4** e **L1** frente as linhagens A549 (tumoral pulmão) e MRC-5 (fibroblastos pulmão).



Sabe-se que o ensaio de MTT avalia a porcentagem de células viáveis, ou seja, células metabolicamente ativas e que a inativação metabólica pode estar

associada à morte celular (ação citotóxica) ou a uma intervenção nos mecanismos envolvidos no processo de divisão celular, não necessariamente levando a morte da célula (ação citostática) [215,233]. Em vista disso, pode-se propor a hipótese de ocorrência de um mecanismo de inibição citostático para os complexos **J1-4** e para o ligante **L1** frente a linhagem A549. Para se constatar essa hipótese e avaliar o caráter citotóxico e/ou citostático dos compostos é necessário a realização de ensaios complementares com a linhagem A549, como o ensaio BrDU (bromodesoxiuridina), que faz a diferenciação das células que estão na fase de duplicação celular (fase S), das células em processo de morte [219]. Ainda podem ser realizados ensaios de morte celular e ciclo celular com células A549, para avaliar a existência de citotoxicidade e, se o comportamento citostático de fato existir, em qual fase do ciclo os compostos restringem a divisão celular.

Diante dos resultados de atividade antiproliferativa apresentada para os compostos ciclopaladados, **JC1-4**, para o ligante **L1** e seus complexos de Pd^{II}, **J1-4**, foi demonstrado que a família de complexos **J1-4** mostrou-se mais promissora como candidatos a fármacos antitumorais. Essa afirmativa baseia-se na maior ação inibitória dos complexos **J1-4** [IC₅₀ 1,51 µM a 3,20 µM] frente as células tumorais A549, em comparação aos ciclopaladados **JC1-4** [IC₅₀ 48,19 µM a 80 µM], além da maior seletividade para essa linhagem apresentada pelos complexos **J1-4**. Analisando-se o papel dos ligantes fosfínicos na estrutura dos compostos metálicos, para essa linhagem em específico, pode-se inferir que esses ligantes não influíram significativamente na atividade inibitória. Comparando os pares de compostos ciclopaladados e complexos com mesmo ligante fosfina, como os compostos **JC1** e **J1**, verifica-se uma grande diferença nos valores de IC₅₀ [**JC1** IC₅₀ >80 µM; **J1** IC₅₀ 1,51 µM]. Essa condição reforça a importância da presença do ligante **L1** na esfera de coordenação dos compostos para a ação antitumoral dos complexos **J1-4**.

Quando se comparam os valores de IC₅₀ frente as células tumorais de mama, MCF-7, os compostos ciclopaladados **JC1-4** [IC₅₀ 26,33 µM a 19,22 µM] mostram-se mais ativos em comparação aos complexos **J1-4** [IC₅₀ 48,87 µM a 38,10 µM]. Como os compostos ciclopaladados mostraram alta toxicidade frente

a linhagem de pulmão não tumoral MRC-5 [IC_{50} 8,12 μ M a 28,92 μ M], é necessário averiguar se esse comportamento pode também ocorrer frente a linhagem não tumoral de mama, MCF-10a, o que representaria uma menor seletividade desses compostos. Ainda sobre a toxicidade, dentre os ligantes fosfínicos, os compostos contendo o ligante *p*-toluifosfina, apresentaram-se como os mais tóxicos frente a linhagem não tumoral MRC-5 [**JC4** IC_{50} 8,12 μ M; **J4** IC_{50} 9,62 μ M]. Essa condição pode indicar a associação do substituinte metoxila dos anéis fenila no ligante trifenilfosfina à mecanismos de toxicidade em células normais.

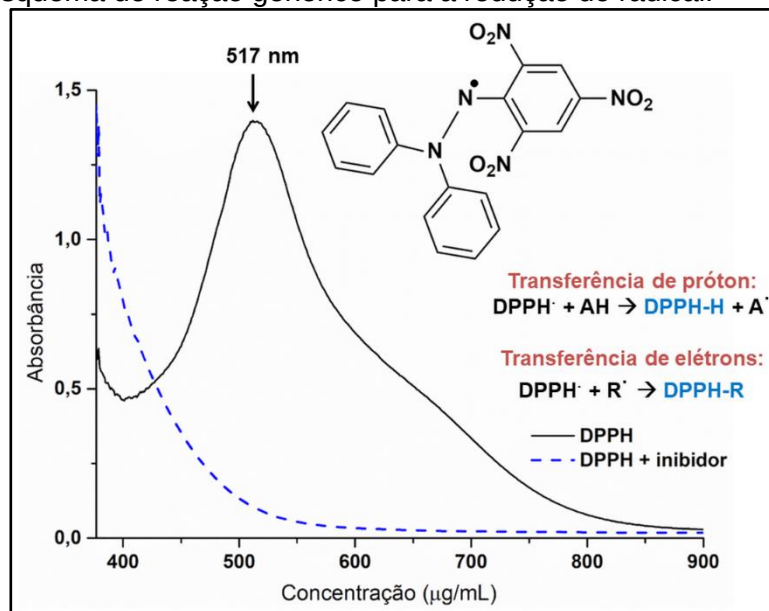
Ensaio de atividade antioxidante (DPPH)

Algumas doenças degenerativas estão associadas com danos celulares causados por estresse oxidativo, e o câncer está incluído nessa gama de doenças. Nesse contexto, o mecanismo de ação de vários fármacos antineoplásicos, como os metalofármacos de platina, envolve a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), ou de radicais livres que estão frequentemente associados a efeitos colaterais graves e indesejáveis, como nefrotoxicidade, ototoxicidade e neuropatia periférica [234,235]. Dessa forma, a avaliação da atividade antioxidante de potenciais agentes antineoplásicos vem sendo investigada considerando que esta propriedade pode influenciar positivamente a ação antitumoral desses compostos [236–239].

O teste de inibição do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) tem sido continuamente aplicado para a mensuração do potencial antioxidante de compostos, em especial para complexos metálicos [240–243]. Esse teste colorimétrico baseia-se na reação de redução do radical DPPH pelo possível agente redutor. A solução do radical DPPH apresenta um máximo de absorção na região de 517 nm (coloração roxa) e, dessa forma, a ação antioxidante do composto em estudo pode ser monitorada pelo decaimento dessa banda (517 nm) em função da mudança de coloração da solução do radical DPPH reduzido (coloração amarela) [244][245]. Na **Figura 80** é apresentado a estrutura do

radical DPPH, o espectro de absorção molecular dessa espécie livre e na presença de um agente redutor (Ácido ascórbico).

Figura 80: Estrutura química do radical DPPH, espectro de absorção dessa espécie e esquema de reação genérico para a redução do radical.



Assim, a ação antioxidante dos compostos **JC1-4**, **L1** e **J1** foi mensurada através do teste DPPH. Para isso, foram realizadas diluições sucessivas dos compostos em metanol, em uma solução de DPPH também em metanol.

Para os compostos ciclopalladados **JC1-4** foi observada uma diminuição pouco significativa na banda de absorção em 517 nm já na concentração máxima dos compostos avaliada (200 µg/mL). Os espectros obtidos para esse experimento são apresentados na **Figura 81**. Diante deste resultado, foram calculadas as porcentagens de inibição do DPPH para cada composto na concentração de 200 µg/mL, as quais são representadas pelo gráfico de barras na **Figura 82**. As porcentagens de inibição foram calculadas utilizando a **Eq.1**.

Figura 81: Espectros obtidos para o ensaio de inibição do radical DPPH para os ciclopalladados **JC1-4** na concentração máxima de 200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

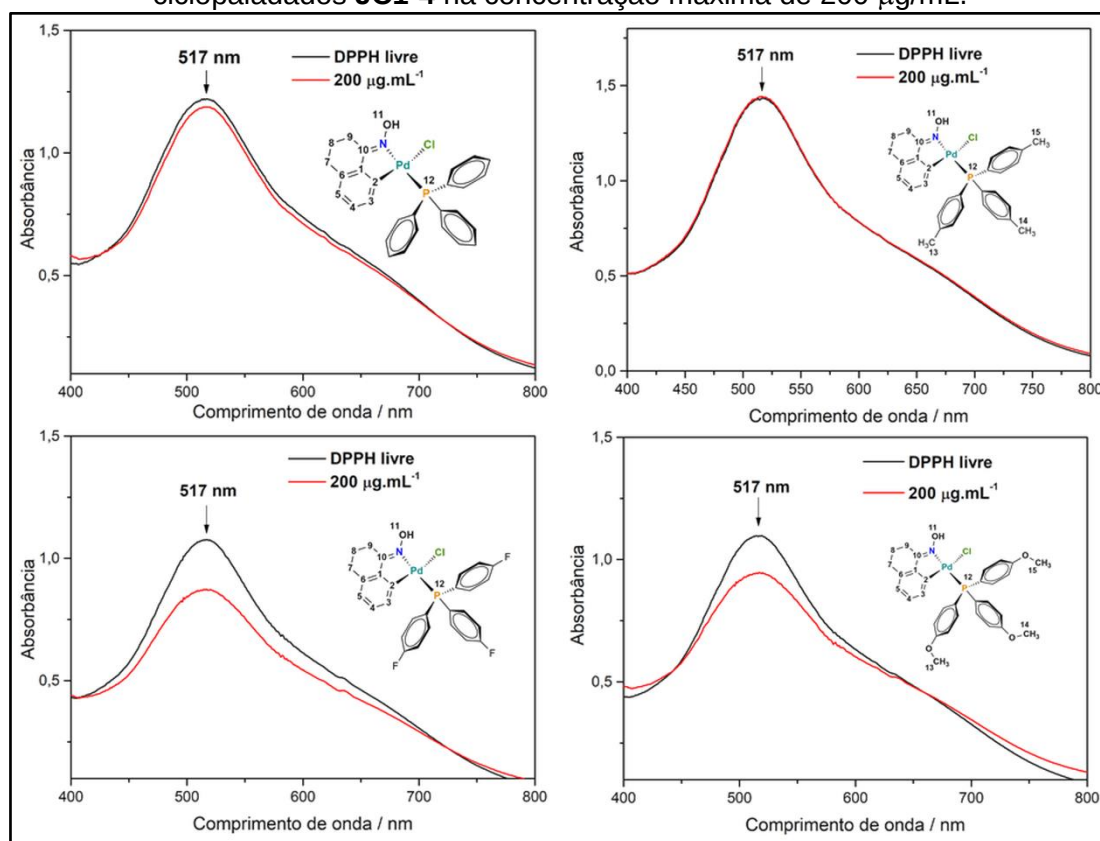
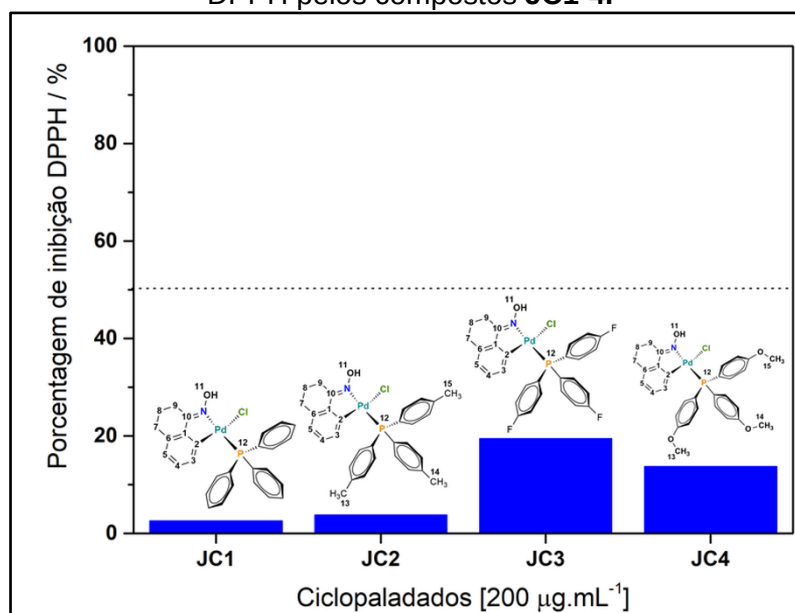


Figura 82: Gráfico de barras representando as porcentagens de inibição do radical DPPH pelos compostos **JC1-4**.



De acordo com as porcentagens de inibição do radical DPPH calculadas, os ciclopalladados **JC1-4** não apresentaram atividade antioxidante significativa,

uma vez que no máximo de concentração dos compostos avaliada as porcentagens de inibição ficaram abaixo de 50 %. Os compostos **JC3** e **JC4** exibiram as maiores porcentagens entre os compostos da família, com valores de inibição do radical de 18,9 % e 13,7 %.

A inibição do radical DPPH pode ocorrer através de dois mecanismos distintos: por transferência de elétron ou transferência de um próton [244,246,247]. No caso dos compostos ciclopaladados **JC1-4**, a transferência de elétrons estaria impedida em função da estabilidade do estado de oxidação do íon Pd^{II} coordenado. No entanto, teria a possibilidade de ocorrência do mecanismo via transferência de um próton pela presença do grupo OH da porção oxima do ligante tetrox coordenado. Todavia, o resultado obtido pode demonstrar a estabilidade da ligação OH oxima, o que pode ter dificultado a ação redutora dos ciclopaladados frente ao radical DPPH. A estabilidade desta ligação pode ser também correlacionada a ligação de hidrogênio intramolecular entre o ligante clorido e o hidrogênio do grupo oxima, identificada pela elucidação estrutural por difração de raios X do composto **JC3** (*vide Figura 43*), que pode igualmente estar presente nos demais ciclopaladados da família.

Os resultados de inibição do radical DPPH para o ligante **L1** e para o complexo **J1** em comparação ao inibidor padrão (ácido ascórbico) são apresentados no gráfico da **Figura 83**. Os espectros de absorção dos experimentos de inibição para o ligante **L1** e para o complexo **J1** são apresentados na **Figura 84**. Como pode-se observar pelas curvas de concentração por porcentagem de inibição do radical no gráfico, o ligante **L1** apresenta ação antioxidante, porém em comparação ao padrão ácido ascórbico, essa ação é baixa. Já o complexo **J1**, não apresentou atividade antioxidante significativa, com uma porcentagem de inibição próxima a zero. A concentração inibitória mínima (IC_{50}) calculada para o ácido ascórbico foi de $5,81 \pm 0,88 \mu\text{g/mL}$ [2,29 μM] e para o ligante **L1** foi de $123,47 \pm 24,71 \mu\text{g/mL}$ [49,75 μM].

Figura 83: Gráfico de porcentagem de inibição do radical DPPH para o ligante **L1** e para o complexo **J1**.

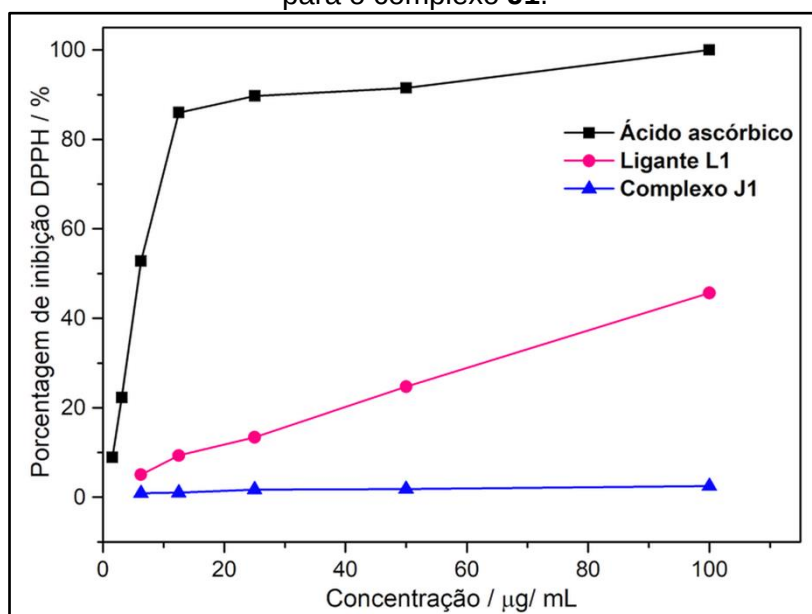
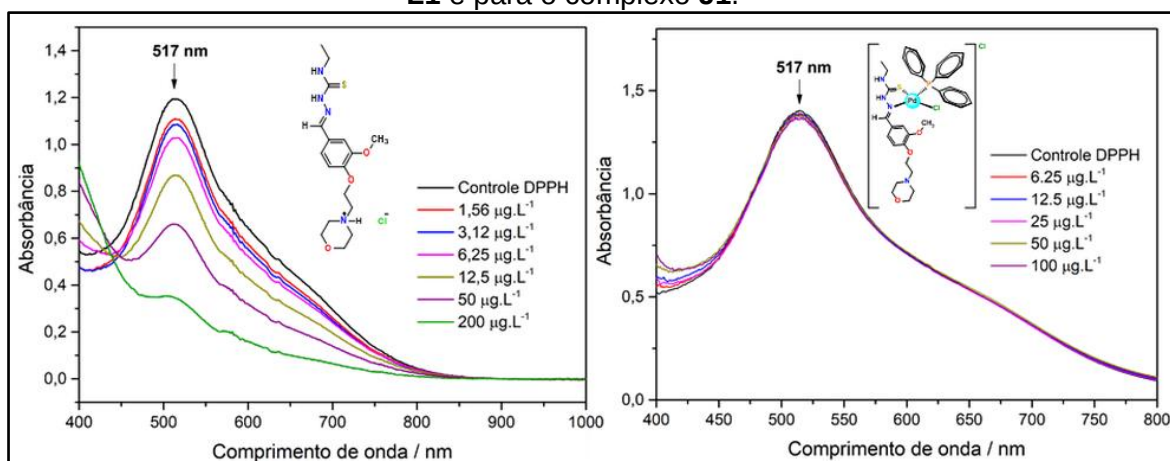


Figura 84: Espectros obtidos para o ensaio de inibição do radical DPPH para o ligante **L1** e para o complexo **J1**.



Diversos trabalhos na literatura reportam a ação antioxidante de ligantes tiossemicarbazonas baseando-se no teste de inibição do radical DPPH [246–248]. Grande parte desses estudos demonstram que estes compostos comumente apresentam ação antioxidante maior ou comparável à de padrões como o ácido ascórbico [248]. Sykula, A. e colaboradores, ao estudar a ação antioxidante de bases de schiff, dentre elas tiossemicarbazonas, verificaram que a ação antioxidante desses compostos frente ao radical DPPH é dependente do tempo de incubação e da estrutura específica do composto. A depender desses fatores, a reação com o radical será mais rápida ou mais lenta [210]. Levando-

se em consideração essas informações e tendo em vista que o experimento com o ligante **L1** foi realizado utilizando o tempo de incubação padrão de 30 min, pode-se sugerir que o baixo potencial de inibição do radical DPPH observado pode estar associado a uma possível cinética lenta para a reação de redução. Considerando os dois mecanismos de inibição possíveis para o radical DPPH (transferência de hidrogênio ou de elétron), bem como a estrutura do ligante **L1**, pode-se sugerir que a reação de redução do radical ocorra pela transferência de hidrogênio, uma vez que na estrutura de **L1**, segundo os dados de RMN ^1H , tem-se a presença de dois hidrogênios ionizáveis na molécula (H9, H20).

Ainda, pela estrutura química do radical DPPH, observa-se que o N-radical no centro da molécula apresenta-se estericamente impedido em função do sistema aromático presente. Essa característica estrutural faz com que moléculas menores tenham maior acesso ao N-radical, o que pode resultar em uma maior ação inibitória. Essa condição representa uma das limitações do teste de DPPH [249]. Com isso, pode-se justificar a perda da ação antioxidante do ligante **L1** quando coordenado em função do complexo **J1** apresentar uma estrutura com maior impedimento, pela associação do ligante trifenilfosfina.

Estudos de interação com o DNA

Dentre as biomoléculas que representam alvos terapêuticos, o DNA apresenta-se como um dos principais alvos explorados no estudo de novos potenciais agentes antitumorais [250–252]. A avaliação da interação com o DNA pode fornecer informações iniciais importantes com relação aos possíveis mecanismos de ação envolvidos na atividade inibitória do composto [253]. Para os complexos, esta biomolécula é um importante alvo por essas espécies serem capazes de atuar como um ligante, podendo ocorrer a coordenação através das moléculas de açúcar, fosfatos e bases nitrogenadas do DNA, caracterizando interações de natureza covalente. Esse tipo de interação é considerada de natureza forte e, em muitos casos, pode ser irreversível [253,254].

Além das interações covalentes, os complexos podem interagir por interações não covalentes de natureza eletrostática. Esse tipo de interação pode ocorrer por meio de intercalação entre as bases nitrogenadas (empilhamento- π),

interações eletrostáticas entre cargas opostas (entre as cargas negativas dos grupos fosfato do DNA e compostos catiônicos) ou ainda através de forças de van der Waals em regiões de sulco do DNA [254–257]. As interações não covalentes têm atraído considerável interesse de investigação por poderem aumentar a especificidade da interação e igualmente por representarem uma forma reversível de interação. Essas características podem atribuir diferentes modos de ação para complexos metálicos em comparação aos metalofármacos baseados em platina, que são reconhecidos por formarem ligações covalentes com o DNA [62,258,259].

Diferentes técnicas espectroscópicas vêm sendo empregadas para avaliar os possíveis modos de interação DNA-composto, dentre elas destacam-se o dicroísmo circular (CD) e a titulação por UV-vis [141,260,261]. Ainda se visando o estudo dessas interações, podem ser realizados ensaios de competição com moléculas cujo modo de interação com o DNA tenha sido previamente determinado e causem modificações perceptíveis em respostas espectroscópicas. Essas moléculas funcionam como sondas que permitem obter informações quanto a força da interação do composto em estudo com o DNA [254].

Nesse contexto, foram realizados ensaios de interação com o DNA para compostos representativos das duas séries de complexos visando obter um perfil preliminar de interação destas substâncias com biomoléculas alvo. Considerando a similaridade estrutural e de ação inibitória apresentada pelos ciclopalladados **JC1-4** frente as linhagens avaliadas, o composto **JC3** foi selecionado como representativo da série para a realização dos ensaios de interação com o DNA. Assim, nas **Figuras 85 e 86** são apresentados os espectros de dicroísmo circular (CD) e titulação por UV-vis obtidos para o composto **JC3**.

Figura 85: Espectro CD do DNA na presença de diferentes proporções do ciclopáladado **JC3** ([DNA] = 50 μ M).

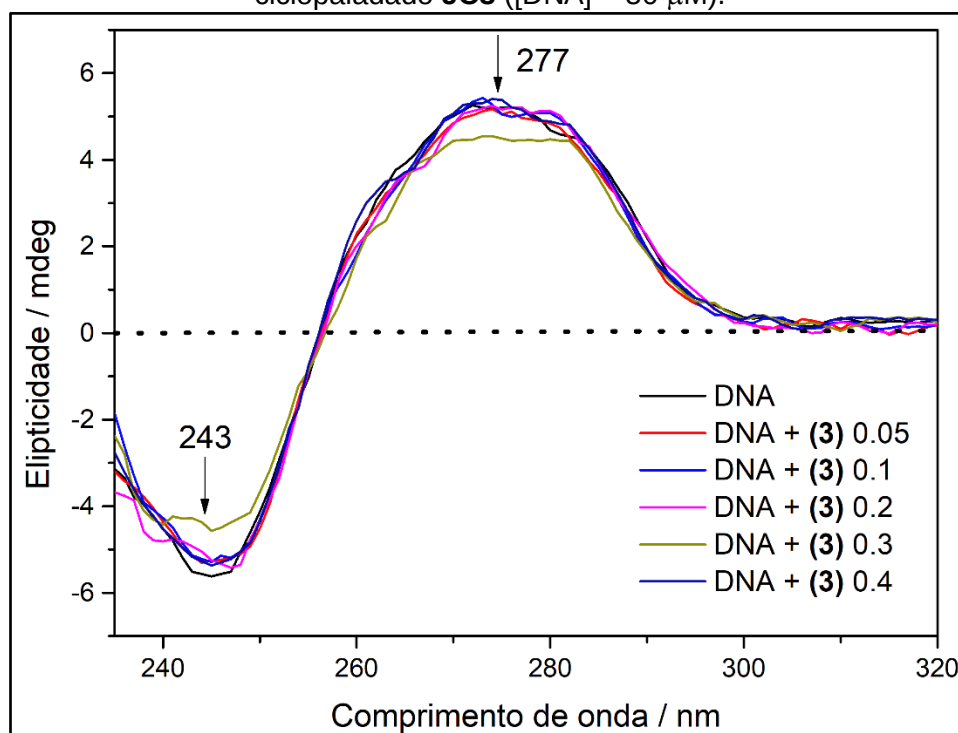
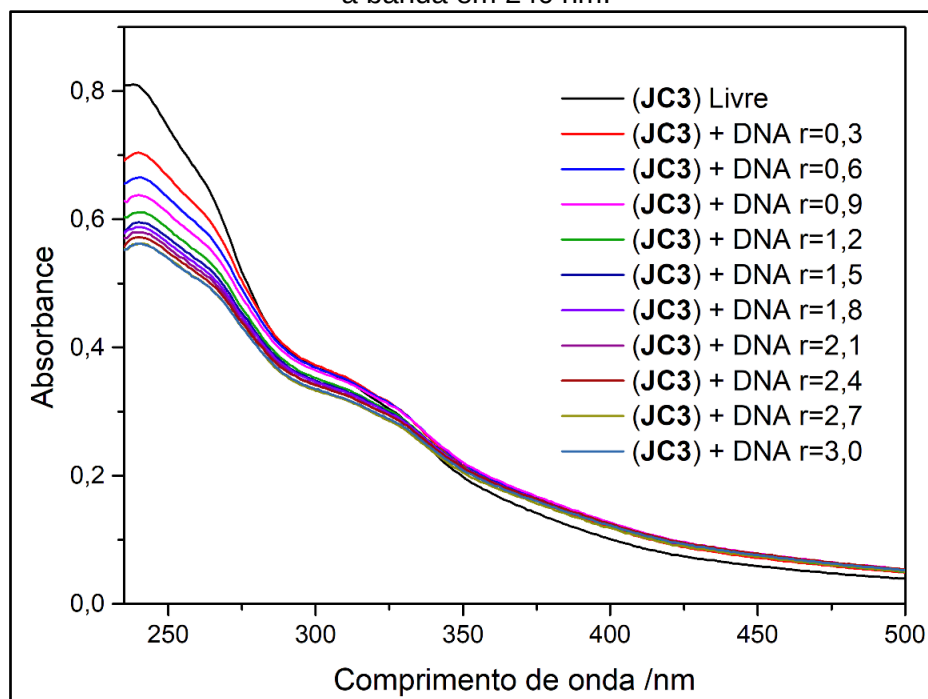


Figura 86: Espectro de absorção UV-vis para o ciclopáladado **JC3** (20 mM) na ausência e na presença de ct-DNA (faixa de concentração de 0 a 60 μ M), monitorando a banda em 240 nm.



A alta sensibilidade da técnica de CD permite a detecção de pequenas alterações na estrutura secundária do DNA em solução. O espectro do ct-DNA, utilizado nos ensaios, apresenta duas bandas de absorção: uma em 277 nm (banda positiva) e outra em 243 nm (banda negativa). Modificações nessas bandas podem indicar a ocorrência de alterações conformacionais na estrutura do DNA em função da presença de uma segunda espécie [262]. A identificação dessas alterações pode indicar interações de natureza forte entre o composto em estudo e o DNA, como a promoção de ligações covalentes ou intercalações [263]. Intercaladores clássicos como o brometo de etídio, tendem a aumentar a intensidade de ambas as bandas no espectro CD, em função da forte interferência das interações por empilhamento- π nas conformações estáveis do DNA. Porém, interações fracas, como as interações eletrostáticas nas regiões de sulco promovidas por moléculas menores, podem ocasionar pequenas perturbações ou não modificar as bandas no espectro CD do DNA [264]. Pode-se observar pelo espectro CD da **Figura 85**, que a adição de diferentes proporções do composto **JC3** não ocasionou modificações significativas nas bandas de absorção do DNA (277 e 243 nm), podendo indicar a ausência de interações fortes, como intercalação e ligações covalentes entre o composto e o DNA [263,265].

Em função das transições eletrônicas π - π^* e n - π^* dos grupos cromóforos purinas (adenina e guanina) e pirimidinas (citosina e timina), o DNA apresenta uma banda intensa de absorção na região de 260 nm no espectro de UV-vis. Interações do DNA com compostos cromóforos pode ocasionar modificações significativas tanto na banda de absorção do DNA quanto nos próprios máximos de absorção característicos ao composto. Por esta condição, as interações composto-DNA podem ser avaliadas pela análise dos espectros do DNA ou do composto livre em comparação ao espectro da combinação DNA-composto. Portanto, interações de natureza não covalente entre o DNA e complexos pode modificar as transições eletrônicas destas espécies [266].

Quando ocorrem interações por intercalação, o posicionamento do composto entre as bases nitrogenadas faz com que ocorra uma sobreposição dos sistemas π do composto e do DNA, diminuindo a energia das transições π -

π^* , resultando em deslocamento batocrômico (deslocamento da banda para maiores comprimentos de onda) e efeito hipocrômico (diminuição da intensidade da banda) [267]. Interações DNA-composto de natureza eletrostática, por perturbarem as ligações de hidrogênio que mantem a estrutura dupla-hélice do DNA, ocasiona uma diminuição das interações entre as bases nitrogenadas, resultando em um efeito hipercrômico (aumento da intensidade da banda). Na condição de ocorrência de interações de natureza fraca, como forças de van der Waals, comumente é observado apenas um aumento (hipercromismo) ou diminuição (hipocromismo) na intensidade da banda de absorção, sem deslocamentos significativos [266,268,269].

O espectro UV-vis para o ciclopaladado **JC3** apresenta um máximo de absorção em 240 nm atribuído a transição eletrônicas do tipo $\pi-\pi^*$. Dessa forma, foram coletados espectros UV-vis do composto **JC3** com a adição crescente de quantidades de ct-DNA. Como pode ser visto pelos espectros apresentados na **Figura 86**, houve uma pequena diminuição de intensidade (hipocroísmo) nas bandas de absorção do composto **JC3**, podendo indicar pequenas alterações na estrutura dupla hélice do DNA devido a interação DNA-**JC3**. Esse efeito tem sido associado a sobreposição dos estados eletrônicos do composto cromóforo com as bases nitrogenadas do DNA nas regiões de sulco [261,270]. Resultado semelhante foi reportado por Alignaghi, *et al*, para o ciclopaladado derivado do ligante piridina-2-carbaldeído oxima, onde observou-se um efeito de hipocroismo sem deslocamento de banda no experimento de titulação por UV-vis sendo igualmente proposto a promoção de interações de natureza fraca na região de sulco do DNA [271].

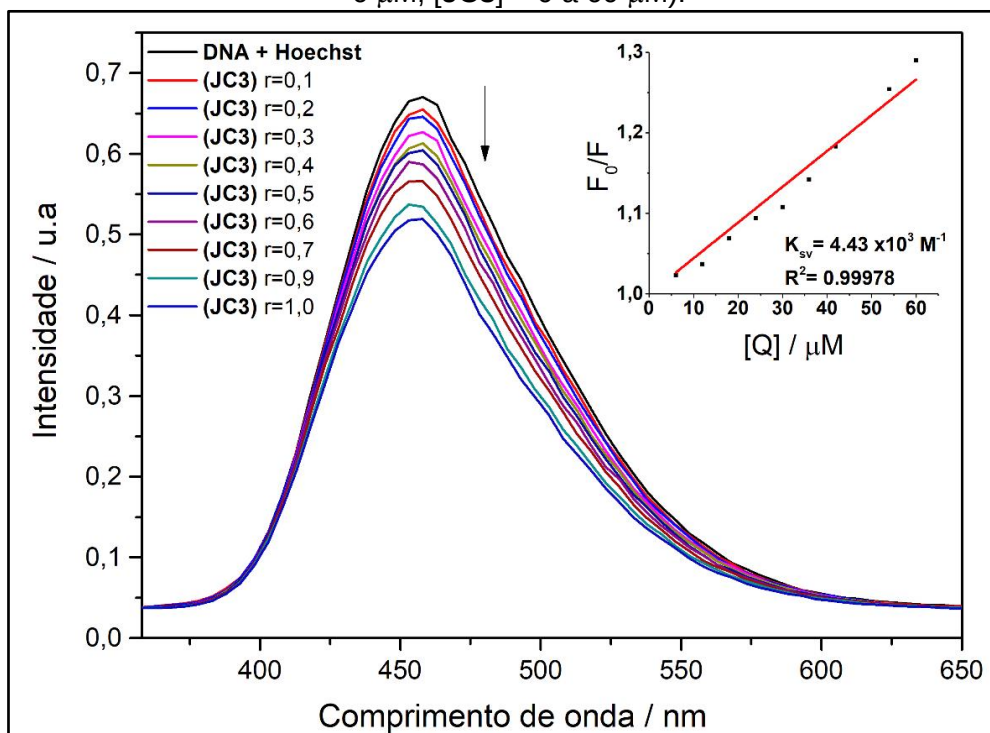
A partir do experimento de titulação por UV-vis, foi calculada a constante de ligação (K_b) para a interação DNA-**JC3** pela equação Benesi-Hildebrand (**Eq. 2**). O valor obtido ficou na ordem de 10^4 M^{-1} ($9,52 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$), o que pode indicar a existência de interações de natureza fraca (não covalentes) entre o DNA e o ciclopaladado **JC3**, concordando com o resultado obtido para o experimento de CD. Ainda, o valor de K_b calculado é pequeno em comparação a compostos intercaladores clássicos, como o brometo de etídio ($K_b = 1,4 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$) [272]. Essa condição pode levar a desconsideração da possibilidade de ocorrência de

intercalação como modo de interação DNA-**JC3**. Em contrapartida, o valor de K_b obtido está de acordo com os valores reportados para pequenas moléculas que interagem fracamente com o DNA em regiões de sulco [261,273,274].

A variação de energia livre (ΔG) para a interação DNA-**JC3** foi estimada, a partir do valor de K_b com a aplicação da equação van't Hoff (**Eq.3**), como sendo de -6,80 Kcal/mol. A obtenção de um valor negativo de energia livre demonstra que a interação promovida entre o DNA e o composto **JC3** é um processo espontâneo. O valor obtido também se encontra próximo ao apresentado por Alignaghi, *et al*, para o ciclopalladado derivado do ligante piridina-2-carbaldeído oxima (-7,04 Kcal/mol) [271].

Considerando a existência de interações de natureza fraca, não covalente, entre DNA e o composto **JC3**, e ainda o valor de K_b obtido semelhante a moléculas que interagem nas regiões de sulco, foi realizado o ensaio de competição por fluorescência com o Hoechst 33258 [140,275]. Essa sonda fluorescente interage justamente na região do sulco menor do DNA por meio de interações não-covalentes e, essa interação resulta em um aumento significativo da intensidade de fluorescência em 458 nm [275–277]. Dessa forma, no ensaio de competição, uma supressão da fluorescência do complexo DNA-Hoechst 33258 pode indicar a substituição da sonda na região de sulco menor pelo composto em estudo [140]. Assim, na **Figura 87** é apresentado os espectros de emissão obtidos no ensaio de competição com o composto **JC3**.

Figura 87: Espectro de emissão do ct-DNA-Hoechst 33258 na presença e na ausência do ciclopáladado **JC3**, a temperatura ambiente e pH 7,4 ([ct-DNA] = 60 μM ; [Hoechst] = 6 μM ; [**JC3**] = 0 a 60 μM).



Como pode ser observado pelos espectros de emissão da **Figura 87**, verifica-se uma diminuição da intensidade de fluorescência do complexo DNA-Hoechst 33258, com a adição de quantidades crescentes do ciclopáladado **JC3**. Apesar disso, não é identificada uma supressão total da fluorescência, com uma diminuição de 22 % da intensidade de emissão. Essa condição evidencia a habilidade do composto **JC3** em substituir o Hoechst 33258 na região de sulco menor do DNA, porém demonstra que o ciclopáladado liga-se menos fortemente com o DNA em comparação a Hoechst 33258, condição que levaria a total extinção da fluorescência [261]. Adicionalmente, foi calculada a constante de Stern-Volmer (K_{sv}) pela **Eq.4**, obtendo-se um valor de $4,43 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$, o que sugere a interação do composto **JC3** através de interações fracas. Esse resultado concorda com os demais resultados obtidos pelos experimentos de CD e titulação por UV-vis.

Para a família de complexos de Pd^{II} foram selecionados o ligante **L1** e o complexo **J1**, como representativos para a realização dos ensaios de interação

com o DNA em função dos melhores resultados de inibição apresentados nos ensaios de MTT. Dessa forma, nas **Figuras 88, 89, 90 e 91** são apresentados os espectros obtidos para os ensaios de dicroísmo circular (CD) e titulação por UV-vis para o ligante **L1** bem como para o complexo **J1**.

Figura 88: Espectro CD do DNA na presença de diferentes proporções do ligante **L1** ($[\text{DNA}] = 50 \mu\text{M}$).

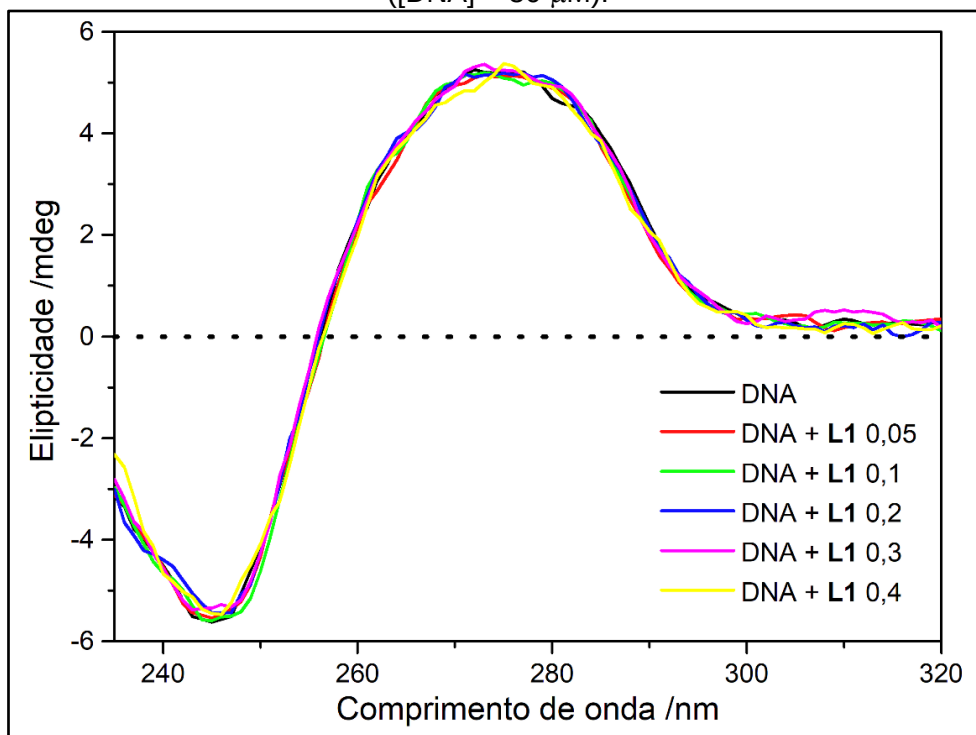


Figura 89: Espectro de absorção UV-vis para o ligante **L1** (20 mM) na ausência e na presença de ct-DNA (faixa de concentração de 0 a 60 μ M).

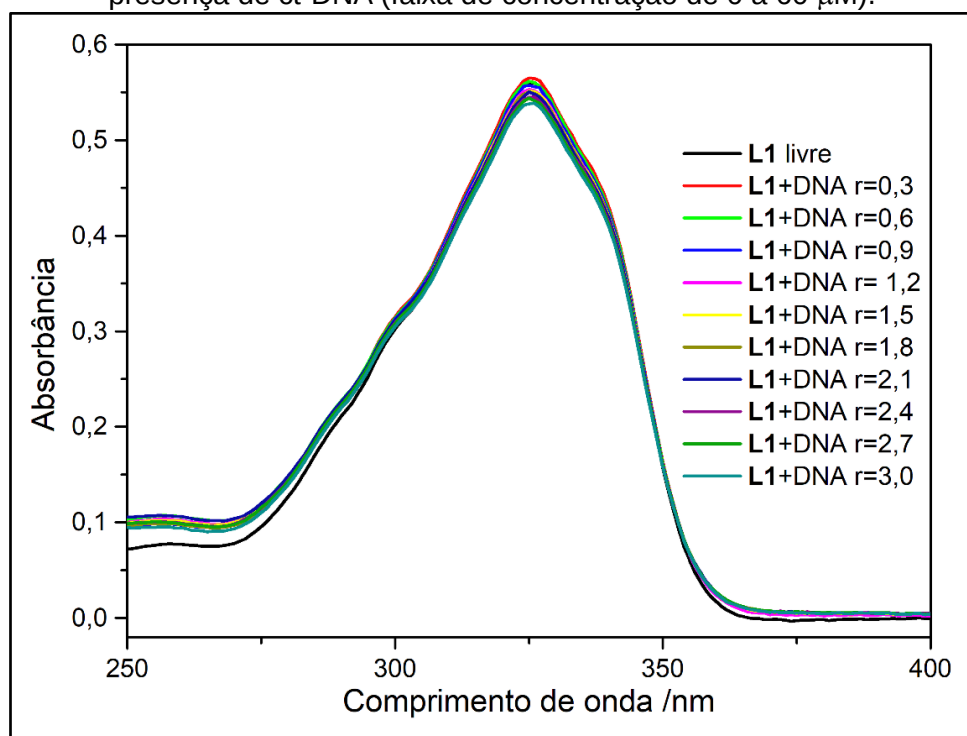


Figura 90: Espectro CD do DNA na presença de diferentes proporções do complexo **J1** ([DNA] = 50 μ M).

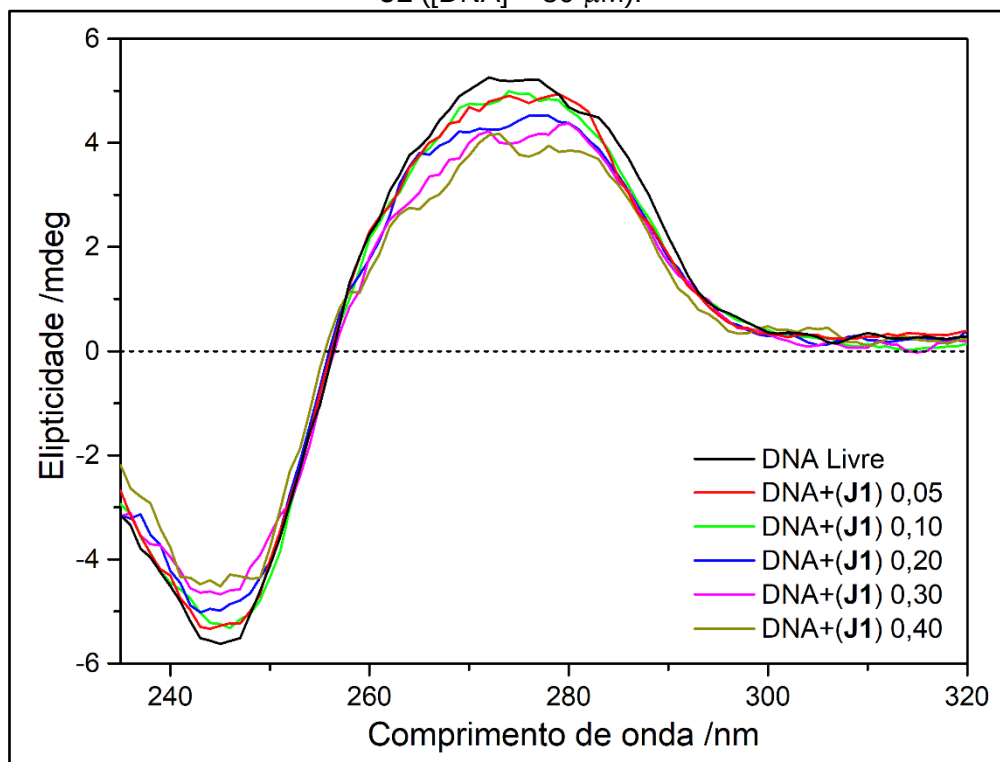
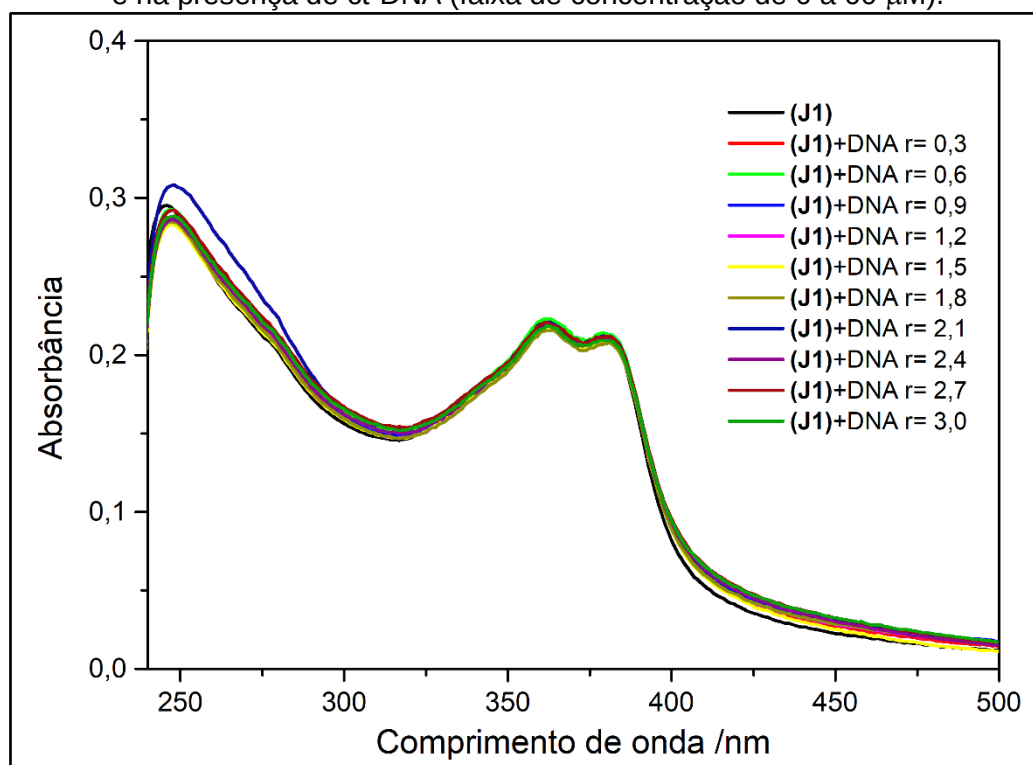


Figura 91: Espectro de absorção UV-vis para o ciclopaladado **J1** (20 mM) na ausência e na presença de ct-DNA (faixa de concentração de 0 a 60 μ M).



Considerando as bandas de absorção características para o ct-DNA no espectro de CD (positiva em 277 nm e negativa em 243 nm), pode-se observar pelos espectros obtidos para os experimentos de interação com o ligante **L1** e com o complexo **J1** que não foram observadas alterações nas respectivas bandas [262]. Essa condição, assim como o proposto para o composto **JC3**, pode indicar que não houve alterações conformacionais na estrutura do DNA na presença dos compostos, levando a desconsiderar a possibilidade de interações de natureza forte, como intercalação ou ligações covalentes [263,265].

De forma similar, para o experimento de titulação por UV-vis não foram observadas alterações nas bandas de absorção do ligante **L1** e do complexo **J1** com a adição de ct-DNA, conforme pode-se observar pelos espectros apresentados nas **Figura 89 e 91**. Esse resultado concorda com o proposto para o experimento de CD, levando, nesse caso, a proposta da promoção de interações de natureza fraca ou a não interação dos compostos avaliados com o DNA. Pela inalteração nas bandas de absorção dos experimentos, não foi possível calcular os valores da constante de interação (K_b) para os compostos.

Assim, partindo-se na proposta da possibilidade da promoção de interações natureza fraca dos compostos com o DNA, foram realizados experimentos de competição na região de sulco menor do DNA com o Hoechst 33258. A banda de emissão em 458 nm característica do complexo DNA-Hoechst 33258 foi monitorada com a adição crescente de quantidades do ligante **L1** e do complexo **J1** [260]. Os espectros de fluorescência obtidos para os experimentos são apresentados nas **Figuras 92, 93** e na **Tabela 23** são exibidos os valores calculados para a constante de afinidade de Stern-Volmer (K_{sv}) para os complexos DNA-**L1** e DNA-**J1** em comparação ao reportado na literatura para o complexo DNA-Hoechst 33258.

Figura 92: Espectro de emissão do ct-DNA-Hoechst 33258 na presença e na ausência do ligante **L1**, a temperatura ambiente e pH 7,4 ([ct-DNA] = 60 μ M; [Hoechst] = 6 μ M; [**L1**] = 0 a 60 μ M).

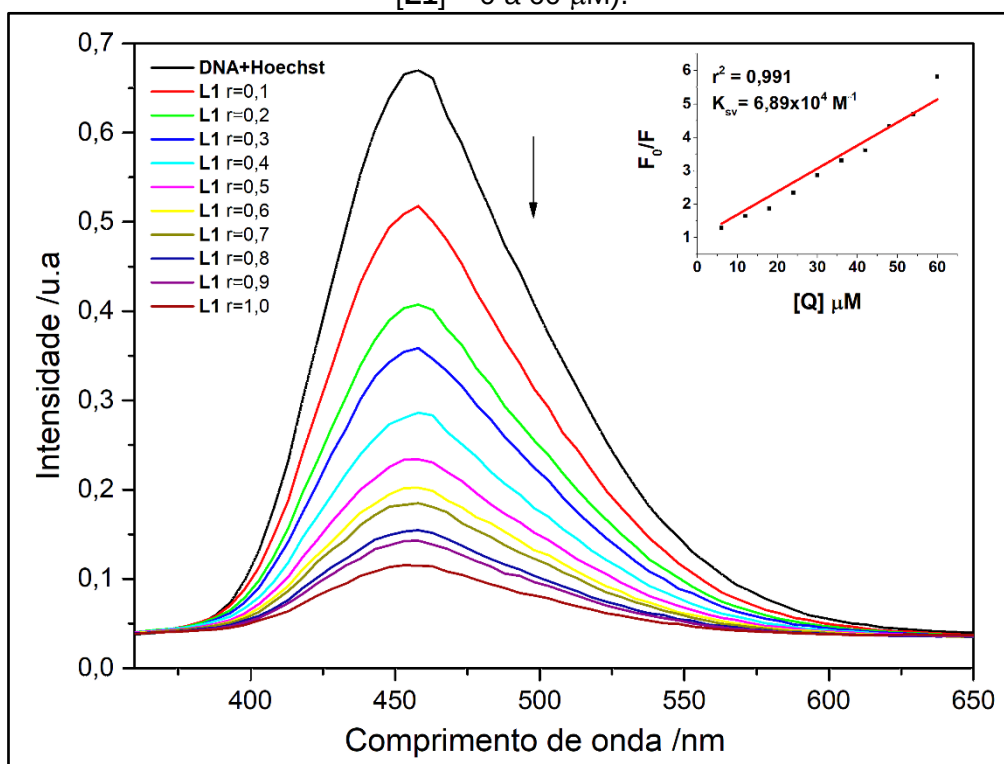


Figura 93: Espectro de emissão do ct-DNA-Hoechst 33258 na presença e na ausência do complexo **J1**, a temperatura ambiente e pH 7,4 ([ct-DNA] = 60 μM ; [Hoechst] = 6 μM ; [**J1**] = 0 a 60 μM).

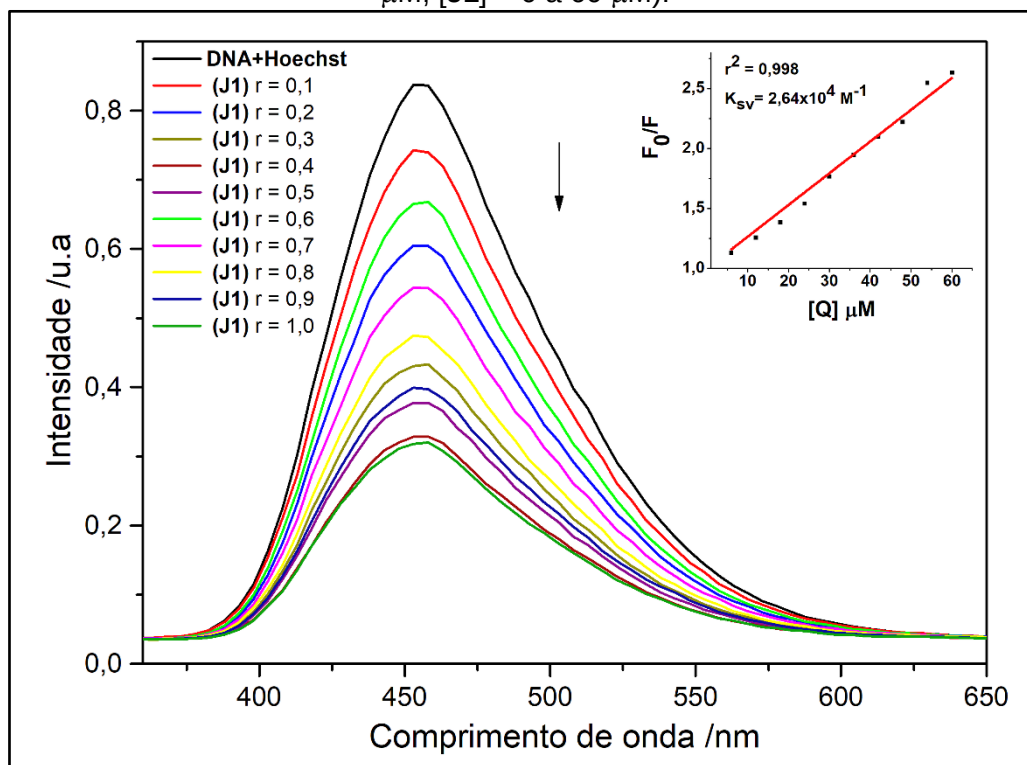


Tabela 23: Valores de constante de afinidade de Stern-Volmer obtidos para o ligante **L1** e para o complexo **J1** em comparação ao valor reportado na literatura para o complexo DNA-Hoechst-33258.

Composto	$K_{sv} \text{ (M}^{-1}\text{)}$	R^2
Ligante L1	$6,89 \times 10^4$	0,991
Complexo J1	$2,64 \times 10^4$	0,998
Hoechst – 33258	$1,83 \times 10^7$ / $4,9 \times 10^6$ e $4,3 \times 10^6$ *	---

* K_{sv} para os sítios de interação 1 / 2 [278]

A interação DNA-Hoechst 33258 pode ocorrer via dois modos distintos na região do sulco menor. A primeira forma de interação ocorre com os pares de bases nitrogenadas do DNA através de interações de empilhamento π - π , enquanto o segundo modo de interação ocorre por meio de forças eletrostáticas entre as cargas positivas do Hoechst 33258 e as cargas negativas dos grupos fosfato do DNA [278].

Pelo experimento de competição promovido com o ligante **L1** e com o complexo **J1**, verifica-se que a presença de diferentes proporções de ambos os compostos no meio ocasionou perturbações no complexo DNA-Hoechst 33258

que resultaram na supressão da fluorescência observada nos espectros. Em proporção equimolar, o ligante **L1** ocasionou uma supressão de 82,7 % da banda de fluorescência DNA-Hoechst 33258, enquanto o complexo **J1**, uma supressão de 61,8 %. Esse comportamento é também evidenciado pelos valores de K_{sv} apresentados na **Tabela 23**, onde para ambos os compostos foram obtidos valores na ordem de 10^4 M^{-1} , superior ao apresentado para o composto **JC3** ($4,43 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$). Esse resultado demonstra que, apesar de não ser observada a extinção da fluorescência com a adição dos compostos, estes apresentam a capacidade de deslocar, mesmo que não totalmente, o Hoechst 33258 do sulco menor, podendo indicar essa como uma região preferencial de interação dos compostos com o DNA. Dessa forma, apesar dos resultados de CD e titulação por UV-vis não terem podido indicar de fato a existência de interação dos compostos com o DNA, pelos ensaios de competição promovidos a existência de interação não pode ser descartada.

Pelos resultados dos ensaios de interação com o DNA realizados pode-se supor que tanto a família de compostos ciclopalladados **JC1-4** quanto a de complexos **J1-4** bem como o ligante **L1** apresentam a capacidade de interagir com o DNA. Esse resultado preliminar pode sugerir também a possibilidade de interação dos compostos sintetizados frente a outras biomoléculas alvo. Outro ponto importante é o possível modo de interação com o DNA apresentados pelos compostos, através de interações de natureza fraca, podendo ser reversíveis, o que pode levar a proposição de mecanismos diversos para os compostos em comparação aos metalofármacos de platina.

A interação com alvos diferentes do DNA e a proposição de mecanismos alternativos já tem sido apresentado para complexos de Pd^{II} . Nosso grupo de pesquisa tem reportado a atividade inibitória de complexos de Pd^{II} contendo tiossemicarbazida, tiossemicarbazonas e fosfinas frente as enzimas alvo topoisomerase $\text{II}\alpha$ e catepsina B [112,279,280]. As topoisomerasas são enzimas envolvidas nos processos de replicação, transcrição e recombinação do DNA, em especial, a Topoisomerase $\text{II}\alpha$ tem sido investigada como um importante alvo antitumoral para complexos por ser encontrada especificamente em tecidos de alta proliferação [279]. Enquanto a catepsina B tem a função de hidrolisar

proteínas, estando associada a progressão de tumores e ao processo de metástase [280].

Particularmente, para os ciclopalladados, a mitocôndria tem sido apontada como possível organela alvo. Estudos tem associado a ação antiproliferativa destes compostos a interação com grupos tióis de proteínas da membrana mitocondrial. Esse processo desencadeia um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio, o rompimento da membrana mitocondrial e, consequentemente, a morte celular por apoptose [70,281].

Estudos de interação com HSA

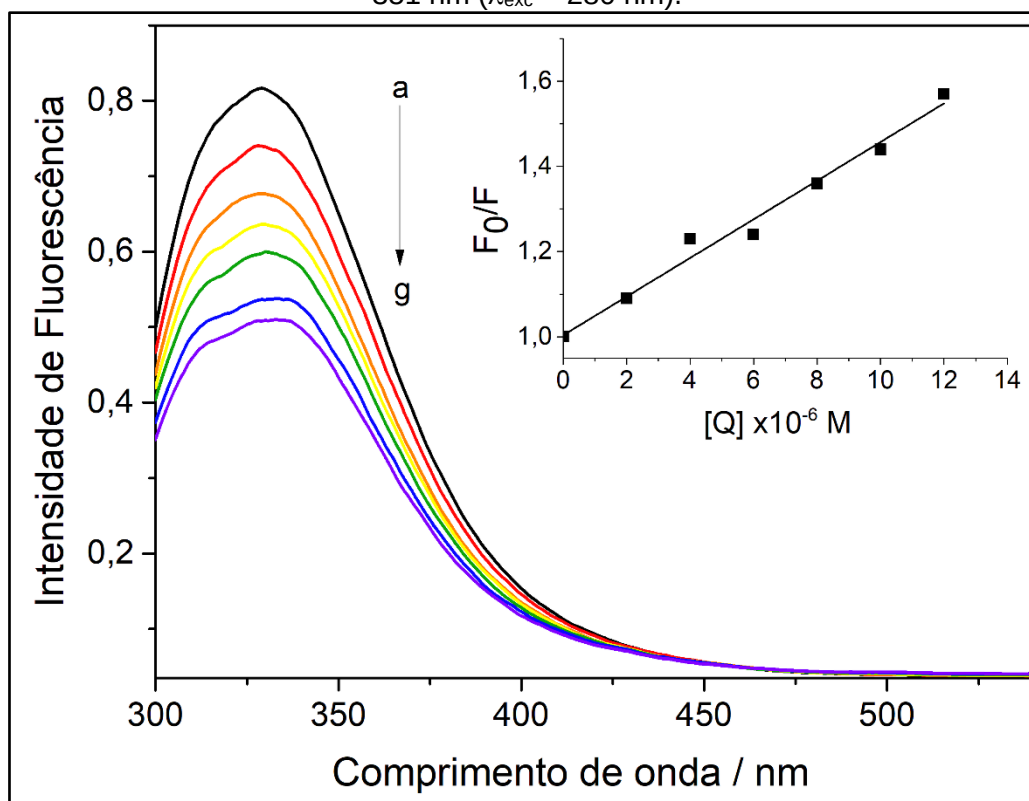
A albumina do soro humano (HSA) é uma grande proteína que contempla 585 resíduos de aminoácidos, sendo considerada a proteína transportadora mais abundante do plasma sanguíneo, estando em uma concentração de 0,65 μ M. Na corrente sanguínea, a HSA tem a capacidade de transportar uma grande variedade de pequenas moléculas endógenas, tais como ácidos graxos e íons metálicos como Cu(II), Zn(II) e Co(II). Além de moléculas endógenas, a HSA age como transportadora de diversas substâncias xenobióticas, como a cisplatina, a qual interage de forma reversível com essa proteína [282,283]. Pelo seu papel de proteína chave no carreamento de fármacos na corrente sanguínea, a HSA pode influenciar diretamente a eficácia do fármaco ao modular a distribuição do medicamento pelas células, afetando a farmacocinética, a biodistribuição e o perfil farmacológico do medicamento [250,284]. Dessa forma, a investigação do modo de interação de candidatos a fármacos com a HSA torna-se importante, sendo atualmente uma exigência de agências reguladoras, como a FDA (Food and Drug Administration) no processo de desenvolvimento de novos medicamentos [283,285].

A estrutura cristalina da HSA demonstra a existência de três domínios homogêneos alfa-helicoidais, I (1-195), II (196-383) e III (384-585), sendo cada um subdividido em dois subdomínios (A e B) [286]. O principal sítio de ligação na HSA está localizado em cavidades hidrofóbicas nos subdomínios IIA, IIIA e IB, conhecidos como sítio I de Sudlow (DS1), sítio II de Sudlow (DS2) e sítio III de Sudlow (DS3) [283,287,288]. Na cavidade hidrofóbica de DS1 está localizado

o resíduo de triptofano (Trp-214) que é o principal responsável pela luminescência intrínseca apresentada pela HSA. Este resíduo é extremamente sensível a ínfimas alterações no ambiente da proteína, especialmente quando moléculas se ligam ao sítio DS1. Por essa razão, a espectroscopia por fluorescência apresenta-se como o método amplamente utilizado para a análise da interação de pequenas moléculas com a HSA [289,290].

Em vista disso, foi investigada a interação entre o ciclopaladado **JC3** e a HSA. Assim como o proposto nos estudos de interação com o DNA, o composto **JC3** foi selecionado como representativo da série de compostos ciclopaladados, considerando a similaridade estrutural e de atividade inibitória dos compostos **JC1-4**. Dessa forma, observou-se o efeito da adição de pequenas concentrações do composto na fluorescência intrínseca da proteína, cujos espectros coletados estão apresentados na **Figura 94**.

Figura 94: Espectros de fluorescência da HSA em ausência e na presença do composto **JC3**. O resíduo de Trp-214 foi monitorado no comprimento de emissão de 351 nm ($\lambda_{exc} = 280$ nm).



Nos espectros de fluorescência obtidos pelo experimento de interação com HSA, observa-se uma supressão gradativa da intensidade de fluorescência da proteína resultante do aumento da concentração do composto **JC3**, em uma faixa de concentração de 0,0 a 7,0 μM . Em quantidades equimolares, a intensidade de fluorescência é reduzida em aproximadamente 9 %, e essa taxa de supressão é mantida ao longo do aumento da concentração do ciclopaladado **JC3**. Essa condição pode indicar a interação do composto **JC3** com a HSA onde a provável região de ligação seja próxima ao resíduo Trp-214 no sítio DS1 [62,283].

A supressão de fluorescência da HSA em presença de um agente supressor pode ocorrer através de três mecanismos: estático, dinâmico ou uma combinação destes. Pelo mecanismo estático tem-se a formação de um complexo entre o supressor e o fluoróforo, enquanto o mecanismo dinâmico é definido como um processo colisional entre as espécies. A supressão via combinação de mecanismos pode ocorrer por uma contribuição equivalente ou não dos mecanismo estático e dinâmico [284,288].

Para analisar o tipo de mecanismo de supressão induzido pelo ciclopaladado **JC3**, foram coletados espectros de fluorescência da proteína na presença do composto, em duas diferentes temperaturas, 298 e 310 K. A partir deste experimento, foi determinada a constante de interação de Stern-Volmer (K_{sv}), pela aplicação da equação de Stern-Volmer (**Eq.5**). Os espectros de emissão coletados pelo experimento são apresentados na **Figura 95** e os parâmetros adquiridos estão contidos nas **Tabelas 24 e 25**.

Figura 95: Espectros de fluorescência da HSA em ausência e na presença do composto **JC3**. O resíduo de Trp-214 foi monitorado no comprimento de 351 nm nas temperaturas de 298 K e 310 K ($\lambda_{\text{exc}} = 280$ nm).

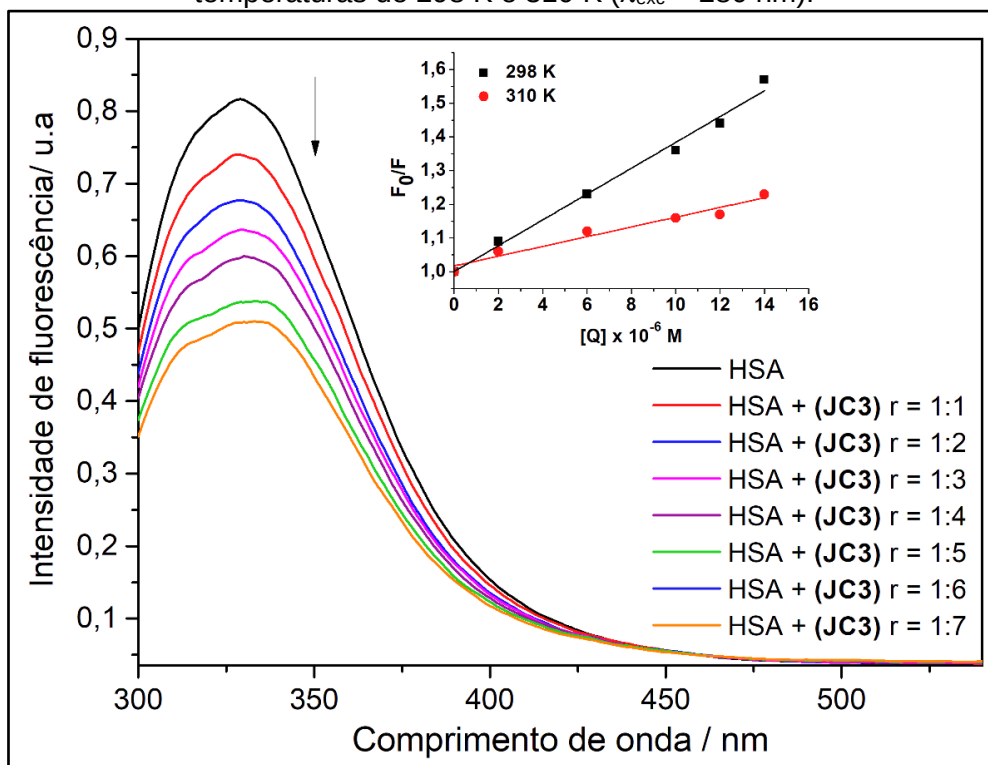


Tabela 24: Constantes de Stern-Volmer (K_{sv}) e taxa de supressão (K_b) para o complexo HSA-**JC3** em diferentes temperaturas.

T (K)	$K_{\text{sv}} (\text{L} \cdot \text{mol}^{-1})$	$K_b (\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$	R^*
298	3.83×10^4	3.83×10^{12}	0.9880
310	4.14×10^4	4.14×10^{12}	0.9941

Tabela 25: Constante de ligação (K_b), o número de sítios de ligação (n) e parâmetros termodinâmicos para o complexo HSA-**JC3** em diferentes temperaturas.

T (K)	$K_b (\text{M})$	n	R^*	$\text{KJ} \cdot \text{mol}^{-1}$		
				ΔH	ΔS	ΔG
298	2.54×10^4	0.96	0.9917			-25.13
310	4.13×10^3	0.79	0.9836	-116.17	-305.52	-21.46

Constatou-se um acréscimo do valor para a constante K_{sv} com o aumento da temperatura, podendo indicar a ocorrência de um mecanismo dinâmico. Em um mecanismo dinâmico, o aumento da temperatura leva a uma rápida difusão e, por consequência, um aumento no valor da constante K_{sv} . Em contrapartida, os valores de K_{sv} obtidos encontram-se na faixa de 10^{12} , sendo superior ao valor

máximo permitido para o mecanismo de extinção por difusão ($2,0 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$)[291–293]. Esta consideração indica uma possível contribuição estática para a supressão de fluorescência promovida pelo ciclopaladado **JC3**, adequando os resultados a hipótese de ocorrência de um mecanismo combinado estático/dinâmico [62,291].

A constante de ligação K_b e o número de sítios de ligação (n) foram mensurados utilizando a equação de Stern-Volmer modificada (**Eq. 6**). Através dos valores de K_q , as variáveis termodinâmicas foram calculadas utilizando a forma integrada da equação de van't Hoff's (**Eq. 3**). O valor de n sendo de aproximadamente 1, sugere a possibilidade de uma única classe de sítios de ligação na HSA para a interação com **JC3**. Variações negativas na entalpia (ΔH) e entropia (ΔS) pode indicar que o ciclopaladado **JC3** possivelmente liga-se a HSA através do estabelecimento de ligações de hidrogênio e forças de van der Waals [294]. Essa evidência concorda com a análise estrutural do composto, onde são encontrados grupos doadores de hidrogênio, como a porção OH oxima, e grupos de característica hidrofóbica, como o ligante trifenilfosfina. Ainda, o valor negativo obtido para a energia livre (ΔG) demonstra a espontaneidade do processo de interação entre o composto **JC3** e a HSA.

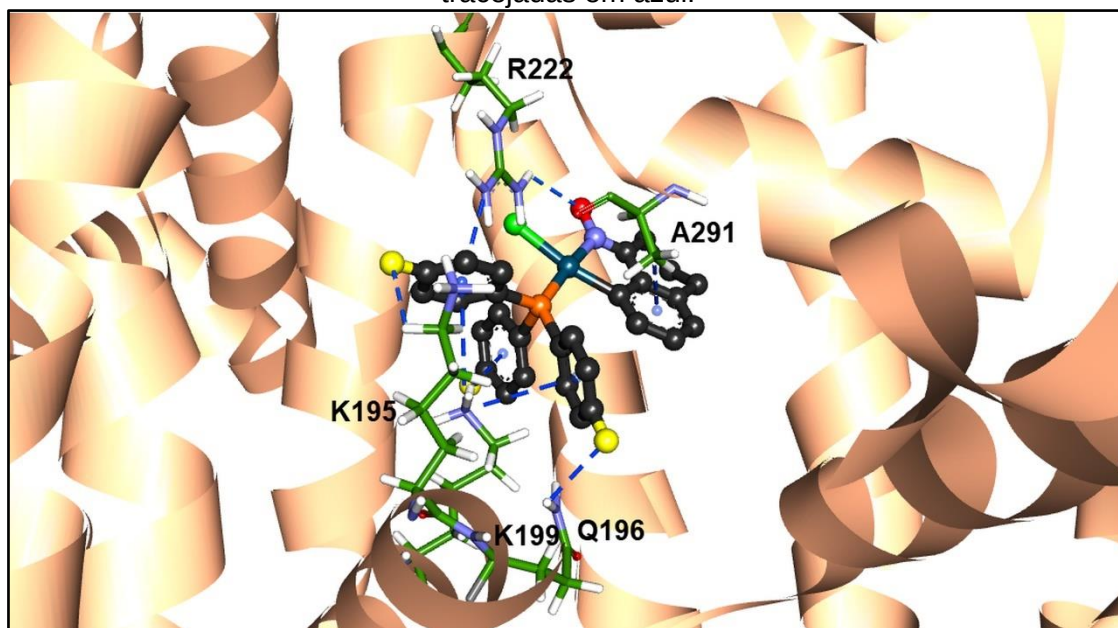
Levando em consideração que o composto **JC3** origina um processo de supressão da fluorescência intrínseca da HSA e que esse efeito é observado, em especial, quando moléculas interagem com o sítio DS1 da proteína, esse sítio foi escolhido como provável região de interação para a realização de uma simulação por docking molecular. Esse recurso computacional permite um melhor entendimento quanto as orientações preferenciais do composto no sítio de interação da proteína, possibilitando ainda identificar grupamentos direcionadores na molécula envolvidos no reconhecimento molecular proteína-composto [127,295].

A região do sítio DS1 é caracterizada como sendo preferencialmente hidrofóbica, porém existem duas subunidades contendo resíduos polares. A primeira dessas subunidades inclui as cadeias laterais dos resíduos Y150, H242 e R257. Já a segunda subunidade polar contém as cadeias laterais dos resíduos

K195, K199, R218 e R222. Na porção hidrofóbica dois resíduos de natureza apolar são identificados, as cadeias laterais de L238 e A291 [295].

A simulação de docking mostrou que a estrutura minimizada do ciclopaladado **JC3** (*vide Anexo 35*) tem a habilidade de entrar no sítio DS1, interagindo preferencialmente com os resíduos da segunda subunidade, conforme é apresentado na pose da **Figura 96**. Baseado nestes resultados, os grupos fluoreto do ligante fosfínico desempenham uma importante função no reconhecimento molecular, estabelecendo ligações de hidrogênio não clássicas do tipo F...H-D com as cadeias laterais dos resíduos K195, J199 e Q196. Além disso, são identificadas interações eletrostáticas do tipo cátion- π entre os anéis fenila do ligante fosfínico e as cadeias laterais dos resíduos K199 e R222. Esse mesmo resíduo, R222, estabelece uma ligação de hidrogênio clássica com o grupo OH-oxima do ligante tetrox. Ainda, completando as interações de reconhecimento molecular, a porção planar do ligante tetrox posiciona-se na porção hidrofóbica, promovendo uma interação do tipo π -alquila com a cadeia lateral do resíduo A291.

Figura 96: Vista parcial do sítio de Sudlaw's I (DS1) para o composto JC3. A molécula é representada com código de cores para os átomos [F (amarelo), Cl (verde), O (vermelho), N (azul), C (cinza escuro) e Pd (azul petróleo)], enquanto as cadeias principais dos resíduos-chave são representadas em verde. Todos os átomos de H de **JC3** foram omitidos para maior clareza. Os contatos são representados por linhas tracejadas em azul.



De acordo com a estrutura cristalizada do complexo HSA-warfarina (PDB ID: 2BXD) utilizada nos cálculos de docking, o fármaco padrão posiciona-se no sítio DS1 pelo estabelecimento de interações com a subunidade polar, através das cadeias laterais dos resíduos H242, K199 e R222, conforme é representado na pose obtida pelo redocking apresentada na **Figura 97**. Além disso, na região hidrofóbica, a cadeia lateral do resíduo A291 aparece como um resíduo chave para o reconhecimento molecular no complexo HSA-warfarina. Na **Tabela 26** é apresentada uma comparação dos resíduos envolvidos nas interações HSA-JC3 e HSA-warfarina.

Figura 97: Vista parcial do subdomínio II no sítio de Sudlaw's I (DS1), com a sobreposição entre o redocking (carbonos em roxo) e a warfaria cristalizada (carbonos em verde) [RMSD 0,889 Å]. As cadeias dos resíduos chave são apresentadas por bastões, com códigos de cores [C (salmão); O (vermelho) e N (azul)].

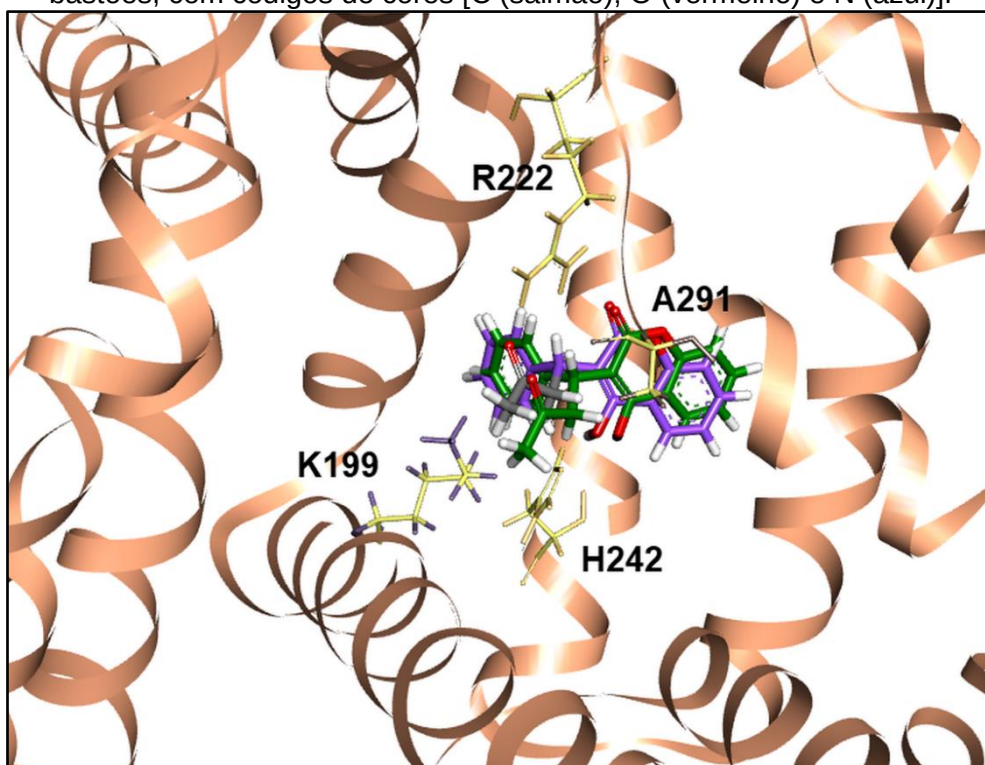


Tabela 26: Relação de resíduos-chave para as interações de **JC3** e warfarina no sítio DS1 da HSA. Em vermelho estão indicadas as interações eletrostáticas e em azul, as interações hidrofóbicas.

Compostos	Resíduos do sítio DS1 (HSA)					
	K195	Q196	K199	R222	H242	A291
JC3						
Warfarina*						

* Contatos extraídos do complexo HSA-warfarina cristalizado.

Observa-se que, dos quatro resíduos envolvidos nas interações do ligante padrão, três coincidem com os verificados no reconhecimento molecular do composto **JC3**. Baseado nesse resultado, em conjunto aos valores de constante de interação (K_b) obtidos experimentalmente (na faixa de aproximadamente 10^3 a 10^4), espera-se que o ciclopaldado **JC3** possa ser transportado pela HSA de forma similar ao fármaco padrão warfarina.

Determinação do coeficiente de distribuição (log D)

A lipofilicidade é uma propriedade físico-química fundamental na investigação e descoberta de novos candidatos a fármaco e sua determinação é obrigatória nos ensaios pré-clínicos iniciais [296]. Para que se tenha uma resposta biológica do fármaco, este deve atingir a biofase, sendo transferido do meio aquoso para o meio celular, por meio de transporte ativo ou passivo pelas membranas celulares e, por fim, para os sítios ativos das proteínas alvo que, em muitos casos, apresentam características hidrofóbicas [297]. Dessa forma, assim como o grau de ionização, a lipofilicidade influi diretamente na farmacocinética das substâncias, interferindo nos parâmetros de ADMET (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade) e, conseqüentemente, na sua ação terapêutica [298].

Por definição, lipofilicidade se refere a capacidade de uma substância ser dissolvida em fases apolares, tais como gorduras, óleos e lipídeos [299]. Considerando a bicamada lipídica celular, uma maior lipofilicidade está diretamente relacionada a maior habilidade do composto em transpor essa barreira celular em concentrações necessárias para que se produza o efeito terapêutico. Neste sentido, a absorção de um fármaco está condicionada ao balanço da sua lipofilicidade; a substância deve ser suficientemente lipofílica para transpor as membranas lipídicas, mas não lipofílico ao ponto de interagir de forma irreversível com as membranas [297].

Dessa forma, a lipofilicidade é mensurada em termos de coeficiente de partição (log P) ou coeficiente de distribuição (log D) os quais, de forma geral, podem ser definidos pela razão entre a concentração da substância em uma fase

orgânica e uma fase aquosa, sob condição de equilíbrio [296]. O log D está relacionado a espécies ionizáveis, enquanto o log P às espécies neutras. Assim, por sua característica, o coeficiente de distribuição (log D) relaciona a concentração das formas ionizada e não ionizada da substância em ambas as fases, orgânica e aquosa, em um determinado valor de pH [142,300]. A fase orgânica, pela característica apolar, considerando a determinação da lipofilicidade de uma substância ionizável, conterá apenas a forma não ionizada da molécula, causando um erro na determinação da concentração da substância na fase orgânica se considerado o log P. Por isso, o coeficiente de distribuição em pH 7,4 (log $D_{7,4}$) é considerado um dos melhores descritores da lipofilicidade pela semelhança com o sistema de partição encontrado em meio biológico [142].

Diferentes métodos têm sido empregados para a determinação dos coeficientes de partição e distribuição, sendo o método shake-flash o mais amplamente utilizado principalmente em função da sua simplicidade de execução [301]. Por esse método, uma quantidade definida do composto é mantida sob agitação em um sistema bifásico saturado; uma fase orgânica (comumente n-octanol pela similaridade estrutural com as membranas lipídicas celulares) e uma fase aquosa (podendo ser uma solução tampão com pH definido) [142,296]. Na sequência, as fases são separadas e a concentração da substância é medida com a utilização de técnicas analíticas, como espectroscopia por UV-vis ou métodos cromatográficos (HPLC) [296]. Na determinação das concentrações em cada fase, é analisada a concentração do composto em uma das fases e, por diferença, é calculada a concentração na segunda fase.

Assim, a lipofilicidade do ligante **L1** e do complexo **J1** foram estudadas pela determinação do coeficiente de distribuição (log D), utilizando o método shake-flash com análise por UV-vis e a aplicação da **Eq.7**. Os compostos foram selecionados para este teste em função dos resultados mais promissores de ação antiproliferativa frente as linhagens celulares testadas previamente pelo ensaio de MTT. Os compostos foram solubilizados inicialmente em n-octanol e, pela solubilidade do ligante **L1** em água (por estar na forma iônica, com a protonação do nitrogênio do anel morfolina), foi necessário a adição de

quantidade suficiente de solução tampão para a solubilização da substância na fase orgânica. Nas **Figuras 98 e 99** são apresentados os espectros obtidos para a curva de calibração em n-octanol e os espectros obtidos em triplicata no experimento de shake-flash para o ligante **L1** e para o complexo **J1**, respectivamente. Nas **Tabelas 27 e 28** são apresentados os parâmetros obtidos e utilizados na determinação do $\log D_{7,4}$ para os compostos.

Figura 98: Espectros UV-vis obtidos para a curva de calibração de **L1** em n-octanol e para a triplicata dos experimentos para determinação do $\log D$.

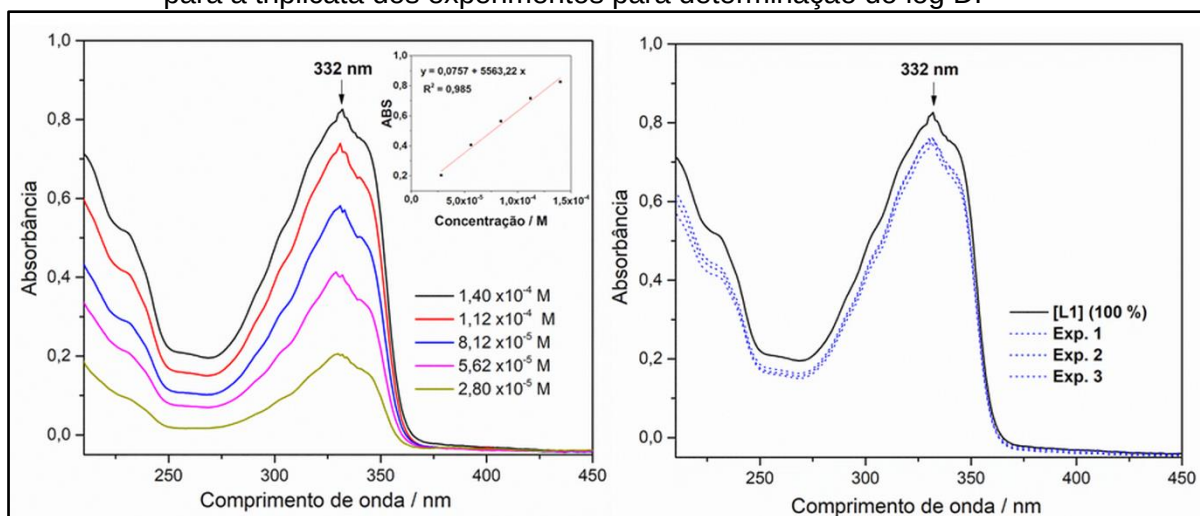


Tabela 27: Dados obtidos para o experimento de determinação do $\log D$ para o ligante **L1**.

Experimento	Absorbância	$[L1]_{\text{oct}} / [L1]_{\text{água}}$	Log D
1	0,7590	$4,50 \times 10^1$	1,6533
2	0,7577	$4,41 \times 10^1$	1,6449
3	0,7424	$3,53 \times 10^1$	1,5481
ABS 100 % [L1]	0,8264		
Média Log D	1,6154		
Desv. Pad.	0,0584		

Figura 99: Espectros UV-vis obtidos para a curva de calibração de **J1** em n-octanol e para a triplicata dos experimentos para determinação do log D.

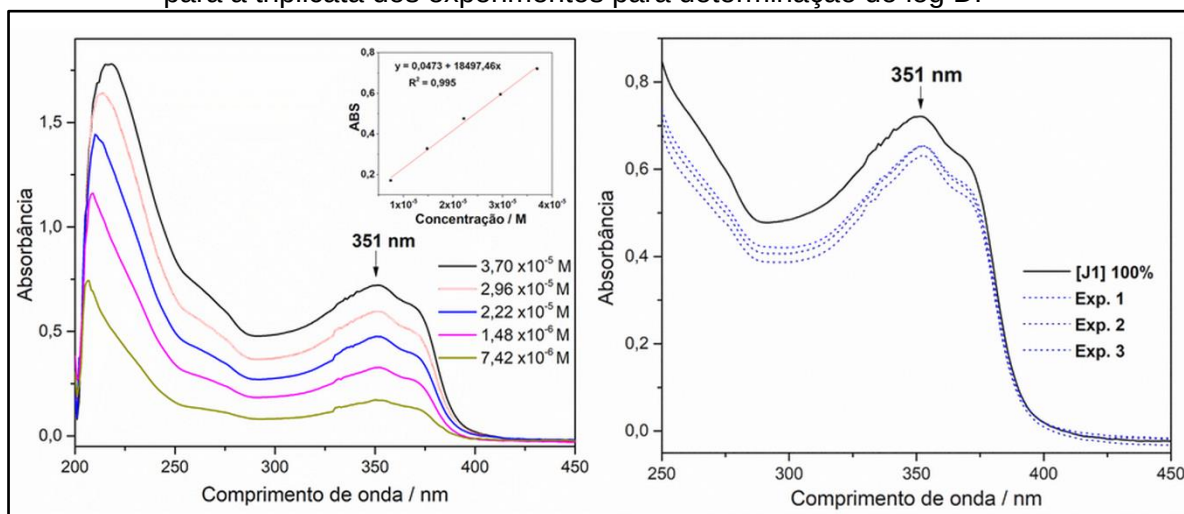


Tabela 28: Dados obtidos para o experimento de determinação do log D para o complexo **J1**.

Experimento	Absorbância	$[J1]_{\text{oct}} / [J1]_{\text{água}}$	Log D
1	0,6523	$3,80 \times 10^1$	1,5803
2	0,6508	$3,72 \times 10^1$	1,5701
3	0,6284	$2,72 \times 10^1$	1,4342
ABS 100 % [L1]	0,7209		
Média Log D	1,5282		
Desv. Pad.	0,0815		

Com base nas regras de Lipinski, que estabelecem 5 condições para propriedades desejáveis dos parâmetros ADMET para fármacos promissores, o coeficiente de partição octanol/água não deve ser superior a 5 [297,299]. Reforçando essa premissa, elevada lipofilicidade ($\log P/D \geq 5$), para compostos em início de ensaios pré-clínicos, frequentemente está associado com rápida eliminação metabólica, baixa solubilidade em meio aquoso, baixa absorção, uma interação desordenada com o receptor alvo *in vitro* e toxicidade *in vivo* [297]. Em contrapartida, valores de $\log P/D$ muito baixos ($\log P/D \leq 1$) prejudicam igualmente os parâmetros ADMET. Nesse sentido, a literatura sugere ser desejável que o coeficiente de partição para candidatos a fármacos encontre-se na faixa de 1 a 3 [297].

Conforme os valores de coeficiente de distribuição obtido para o ligante **L1** ($1,61 \pm 0,05$) e para o complexo **J1** ($1,52 \pm 0,08$), infere-se que a lipofilicidade dos compostos se encontra na faixa desejável para essa propriedade (1 a 3), segundo as regras de Lipinski [297]. Comparando-se os valores obtidos com o valor de log P reportado na literatura para a cisplatina ($\text{Log P } -2,28 \pm 0,07$), pode-se inferir uma maior lipofilicidade para os compostos **L1** e **J1**, o que pode ter acarretado uma maior absorção celular, em comparação ao metalofármaco padrão nos ensaios prévios de MTT [302]. Juntamente, a proximidade dos valores obtidos para o log $D_{7,4}$ sugere que a lipofilicidade do ligante **L1** e do complexo **J1**, pode estar igualmente relacionada aos mecanismos para a diminuição da viabilidade celular apresentadas nos ensaios de MTT.

Comparando o valor de coeficiente de distribuição obtido para o ligante **L1** ($1,61 \pm 0,05$), com o reportado por ligantes tiossemicarbazonas derivados de anel indol, reportados por Bakherad, *et al*, ($\text{Log P } 4,66$ a $6,01$), pode-se sugerir uma lipofilicidade mais equilibrada para o ligante **L1**, com um valor mais próximo da faixa desejável (1 a 3) [303]. Da mesma forma, comparando o valor de log $D_{7,4}$ obtido para o complexo **J1** ($1,52 \pm 0,08$) com complexos de Pd^{II} contendo ligantes base de Schiff derivados do anel pirrol, apresentados por Mabugua, *et al*, ($\text{Log P } 1,2692 \pm 0,004$ e $1,3953 \pm 0,0065$), pode-se verificar uma similaridade do valor obtido com o reportado, demonstrando a adequação da lipofilicidade do complexo com compostos semelhantes na literatura [304].

Diante do exposto, pode-se sugerir que os compostos **L1** e **J1** são promissores em consideração aos parâmetros ADMET. Ainda, considerando a faixa de valor ideal para o coeficiente de distribuição para a administração oral ou intestinal entre 1,35 e 1,8, igualmente pode-se sugerir uma adequação promissora da lipofilicidade dos compostos a estes meios de administração [305].

7. Considerações Finais

De acordo com os dados apresentados e discutidos foram obtidos e estudados os perfis antiproliferativos de duas novas séries de compostos de Pd^{II}

com fosfinas terciárias aromáticas; uma série de ciclopaladados derivados de tetralonaoxima ortometalada e uma série de complexos contendo ligante vanilina-morfolina-etiltiossemicarbazona. Os monômeros ciclopaladados (**JC1-4**) foram obtidos com rendimentos conforme o esperado para esta classe de compostos (46 % a 78 %), cujas respectivas sínteses efetivas foram confirmadas pelos resultados adquiridos tanto por técnicas no estado sólido quanto em solução. Os resultados de análise elementar para esta família evidenciaram a proximidade entre os teores de C, N e H calculados e experimentais, demonstrando a obtenção dos compostos em satisfatório nível de pureza. Nos espectros coletados de espectroscopia na região do infravermelho (IV) foram observadas as bandas referentes aos principais estiramentos das ligações presentes na estrutura dos monômeros. O deslocamento do estiramento da ligação C=N para menores números de onda, com relação ao ligante tetrox livre, evidencia a coordenação do átomo de nitrogênio azometínico ao Pd^{II}. Adicionalmente, o surgimento de uma banda de alta intensidade na região entre 1094 e 1099 cm⁻¹, atribuída ao estiramento da ligação P-C, demonstra a presença dos respectivos ligantes fosfínicos nas estruturas dos monômeros.

Os experimentos realizados por RMN demonstraram a presença tanto do ligante tetrox quanto dos ligantes fosfínicos na estrutura dos compostos em solução pela identificação dos padrões de sinais tanto dos átomos de hidrogênio quanto dos átomos de carbono desses dois ligantes nos espectros coletados. A composição das esferas de coordenação foi indicada pela observação de apenas um sinal singleto nos espectros de RMN ³¹P{¹H} obtidos para os monômeros, caracterizando a coordenação do átomo de fósforo da respectiva fosfina terciária. A ortometalação do ligante tetrox foi caracterizada pelo efeito de desblindagem identificado para o sinal referente ao átomo de carbono da ligação C=N do ligante tetrox e, juntamente, a não correlação direta a hidrogênios do C2, identificada pelos experimentos de DEPT135 e HSQC ¹H-¹³C{¹H}, evidenciaram a coordenação dos átomos de nitrogênio e carbono ao íon Pd^{II}.

Concluindo a caracterização da família de compostos ciclopaladados, foram obtidos monocristais do monômero **JC3** aptos a técnica de DRX em monocrital, tornando-se possível a elucidação estrutural do composto e

atribuindo informações estruturais que puderam ser generalizadas para os demais compostos da série. Os comprimentos e ângulos de ligação ao redor do centro metálico denotaram a formação de um complexo de geometria quadrática plana distorcida, comprovando a presença dos ligantes C^2,N -tetrox, clorido e tris(4-fluoro-fenil)fosfina na esfera de coordenação. Ainda foi identificada uma ligação de hidrogênio intramolecular clássica do tipo $OH\cdots Cl$ entre a hidroxila do grupo oxima e o ligante clorido. Complementando a interpretação dos dados cristalográficos, os cálculos de superfície de Hirshfeld elucidaram uma expansão tridimensional para a estrutura supramolecular de **JC3**, com a predominância de interações de hidrogênio de natureza fraca ($H\cdots H$ e $H\cdots C$) para o reconhecimento molecular, representando 47,3 % dos contatos que mantem o empacotamento cristalino.

A síntese efetiva dos compostos da série de complexos de Pd^{II} contendo o ligante vanilina-morfolina-etiltiossemicarbazona (**J1-4**) foi comprovada a partir dos dados de técnicas no estado sólido e em solução. Tanto o ligante **L1** (Rd: 60 %) quanto os respectivos complexos (Rd: 67 a 90 %) foram obtidos em elevados rendimentos (Rd), demonstrando a eficiência nos métodos de síntese empregados. A comparação entre os teores de C, N e H calculados e experimentais demonstraram que se trata de espécies hidratadas, onde o ligante **L1** livre apresenta-se na forma de cloridrato e os complexos trihidratados. A forma cloridratada atribuída ao ligante **L1** livre foi igualmente suportada pela presença de uma banda no espectro de infravermelho conferida ao estiramento do grupo R_3N^+-H . Ainda, o desaparecimento da banda atribuída ao estiramento da ligação $C=O$ (1675 cm^{-1}) e o surgimento da banda pertencente ao estiramento da ligação $C=N$ (1596 cm^{-1}) no espectro de infravermelho para o ligante **L1** mostrou-se como um indicativo para a formação do derivado tiossemicarbazona.

Pela técnica de espectroscopia na região do infravermelho foi possível se ter indícios da coordenação do ligante **L1** na formação dos complexos **J1-4**. Os deslocamentos sofridos pelas bandas referentes aos estiramentos das ligações $C=N$ e $C=S$ puderam indicar a possível coordenação dos átomos de nitrogênio e enxofre do ligante **L1** ao íon Pd^{II} . Os resultados adquiridos pelas análises no estado sólido foram apoiados pelos dados obtidos pela técnica de ressonância

magnética nuclear (RMN). Nos espectros de RMN coletados para os complexos **J1-4** foram identificados os padrões de sinais atribuídos aos átomos de hidrogênio e carbono presentes tanto no ligante **L1** quanto nos respectivos ligantes fosfínicos, confirmando a formação dos compostos conforme proposto sem a presença de isômeros em solução. A permanência do sinal referente ao hidrogênio hidrazínico nos espectros dos complexos evidenciou a coordenação do ligante **L1** na forma neutra ao centro metálico, originando espécies catiônicas. Igualmente ao ocorrido para a série de compostos ciclopaladados, os espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ coletados para os complexos **J1-4** apresentaram um sinal singlete, corroborando com a coordenação de apenas um ligante fosfínico na esfera de coordenação.

A inserção do grupo morfolina no ligante **L1** efetivamente influenciou na solubilidade dos compostos em água, onde o ligante apresentou-se totalmente solúvel e os complexos **J1-4** parcialmente solúveis. Esta propriedade permitiu a realização de experimentos para a caracterização do perfil lipofílico do ligante e dos complexos, utilizando o composto **J1** como representativo. Os valores de Log D determinados para o ligante **L1** ($1,61 \pm 0,05$) e para o complexo **J1** ($1,52 \pm 0,08$) indicam um perfil lipofílico adequado e promissor para os compostos desta série, com relação as propriedades de ADMET.

A avaliação do caráter antioxidante dos compostos através do teste de inibição do radical DPPH demonstrou que a série de compostos ciclopaladados (**JC1-4**) bem como o complexo **J1**, representativo da série de compostos **J1-4**, não apresentam ação antioxidante. Em contrapartida, o ligante **L1** apresentou um perfil de ação inibitória frente ao radical [IC_{50} 49,7 μM] apesar de inferior ao inibidor padrão testado ácido ascórbico [IC_{50} 2,29 μM].

O monitoramento dos espectros de RMN ^1H e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ nos tempos de 0, 24 e 48 h comprovaram a estabilidade em solução dos compostos de ambas as séries, validando a consideração de conservação da integridade estrutural dos complexos nos ensaios de atividade antiproliferativa. Os ensaios de ação antiproliferativa MTT realizados demonstraram que os compostos ciclopaladados **JC1-4** manifestaram uma resposta similar para todas as linhagens, demonstrando que, para estes sistemas modificações

nos substituintes da fosfina terciária não alteram significativamente a resposta frente as células tumorais. Para essa série, os menores valores de IC_{50} foram obtidos frente as células de mama (MCF-7 [IC_{50} 19,22 a 26,33 μM]), apresentando melhores resultados em relação a cisplatina. Já frente as linhagens de pulmão tumoral (A549) e não tumoral (MRC-5) os monômeros mostraram-se menos ativos e seletivos.

Por outro lado, os compostos **J1-4**, bem como o ligante **L1**, não apresentaram ação antiproliferativa significativa para as linhagens de mama (MCF-7 [IC_{50} 38,14 a 97,9 μM] e MDA-MB-231 [IC_{50} 58,91 a 71,34 μM]), prevalecendo maiores valores de IC_{50} em comparação a cisplatina (MCF-7 [IC_{50} 60,58 μM] e MDA-MB-231 [IC_{50} 61,59 μM]). Porém, frente as linhagens de pulmão tumoral (A549) e não tumoral (MRC-5) os compostos apresentaram elevada e seletiva ação inibitória, apresentando valores de IC_{50} inferiores a 3,20 μM e SI superiores a 3,0. Para este tecido em específico foram obtidos os melhores resultados e observou-se uma similaridade nos valores de IC_{50} para os complexos **J1** e **J3**. A partir desta constatação pode-se supor que substituições na posição *para* no ligante trifenilfosfina por grupos retiradores, como fluoreto, não interferem significativamente na ação antiproliferativa, porém, em comparação aos demais substituintes testados, estes grupos podem potencializar a atividade. Os resultados menos interessantes para a série foram apresentados pelos compostos **J2** e **J4**, levando a consideração de que a inserção de grupos doadores no ligante fosfínico pode acarretar uma menor ação de complexos deste tipo frente a linhagem A549. Ainda, a análise das curvas de viabilidade celular dos compostos para as linhagens MRC-5 e A549 sugeriram a possível ocorrência de uma ação citostática e não citotóxica dos compostos.

As técnicas espectroscópicas aplicadas nos ensaios de interação dos compostos **JC3**, **L1** e **J1** com o DNA demonstraram a ocorrência de interações de natureza fraca, não covalente entre as espécies.

Adicionalmente, os ensaios de competição realizados com Hoechst-33258 evidenciaram a região do sulco menor do DNA como sítio preferencial de interação das moléculas. Estes resultados indicam a tendência de interação dos compostos de ambas as séries em interagir com biomoléculas alvo, além de a prevalência de interações não covalentes poder indicar a ocorrência de mecanismos de ação diversos ao reportado para os complexos de Pt^{II} .

Os estudos de interação do monômero **JC3** com a HSA, utilizando espectroscopia por fluorescência e docking molecular, indicaram que o composto pode ser transportado pela proteína de forma similar ao fármaco padrão warfarina. Este resultado demonstra que a série de compostos ciclopaladados apresenta a capacidade de interagir com proteínas envolvidas no processo de ação farmacológica de fármacos.

A partir dos resultados obtidos e apresentados para as duas séries de compostos, pode-se considerar como verdadeira a hipótese inicialmente proposta de que ciclopaladados derivados do ligante tetralonaoxima ortometalada e complexos de Pd^{II} contendo vanilina-etiltiossemicarbazona funcionalizada com o grupo morfolina, ambos contendo fosfinas terciárias, representam sistemas promissores a atuação como agentes antitumorais. Destaca-se ainda que, pelos resultados observados, os complexos **J1-4** contendo o ligante tiossemicarbazona **L1** podem ser considerados como mais promissores, quando comparados a série de monômeros **JC1-4**. Essa condição demonstra o papel farmacofórico do ligante **L1** na estrutura dos complexos que, comparativamente, conduziu a melhores resultados com relação ao ligante tetralonaoxima ortometalada. Quanto as diferentes fosfinas testadas, pode-se considerar que a substituição por grupos retiradores na posição *para* nos anéis fenila conduzem a melhores resultados de ação inibitória, em comparação a grupos doadores. Apesar desta observação, a similaridade na atividade inibitória pode inferir que as fosfinas terciárias, nos dois sistemas propostos, atuam como ligantes auxiliares.

8. Referências

- [1] B.M. da S.S. de A. à S.I.N. do Câncer., ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer, (2012) 129. https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/inca/abc_do_cancer_2ed.pdf.
- [2] World Health Organization, Cancer: Key Facts, (2021). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>.
- [3] O. Ginsburg, P. Ashton-Prolla, A. Cantor, D. Mariosa, P. Brennan, The role of genomics in global cancer prevention, *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 18 (2021) 116–128. <https://doi.org/10.1038/s41571-020-0428-5>.
- [4] S.J. Ralph, S. Rodríguez-Enríquez, J. Neuzil, E. Saavedra, R. Moreno-Sánchez, The causes of cancer revisited: “Mitochondrial malignancy” and ROS-induced oncogenic transformation – Why mitochondria are targets for cancer therapy, *Mol. Aspects Med.* 31 (2010) 145–170. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2010.02.008>.
- [5] D.E. Malarkey, M. Hoenerhoff, R.R. Maronpot, Carcinogenesis, in: Haschek Rousseaux’s Handb. Toxicol. Pathol., Elsevier, 2013: pp. 107–146. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415759-0.00005-4>.
- [6] P.A. Oliveira, A. Colaço, R. Chaves, H. Guedes-Pinto, L.F. De-La-Cruz P., C. Lopes, Chemical carcinogenesis, *An. Acad. Bras. Cienc.* 79 (2007) 593–616. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652007000400004>.
- [7] G. Danaei, S. Vander Hoorn, A.D. Lopez, C.J.L. Murray, M. Ezzati, Causes of cancer in the world: comparative risk assessment of nine behavioural and environmental risk factors, *Lancet.* 366 (2005) 1784–1793. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67725-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67725-2).
- [8] N.C. Støer, E. Botteri, G.H. Thoresen, Ø. Karlstad, E. Weiderpass, S. Friis, A. Pottegård, B.K. Andreassen, Drug Use and Cancer Risk: A Drug-Wide Association Study (DWAS) in Norway, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 30 (2021) 682–689. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-20-1028>.
- [9] H. Rungay, N. Murphy, P. Ferrari, I. Soerjomataram, Alcohol and Cancer: Epidemiology and Biological Mechanisms, *Nutrients.* 13 (2021) 3173. <https://doi.org/10.3390/nu13093173>.
- [10] I. Soerjomataram, A. Bardot, J. Aitken, M. Piñeros, A. Znaor, E. Steliarova-

- Foucher, B. Kohler, M. Bettio, T. Matsuda, M. Camargo Cancela, L. Mery, F. Bray, Impact of the <scp>COVID</scp> -19 pandemic on population-based cancer registry, *Int. J. Cancer*. (2021). <https://doi.org/10.1002/ijc.33792>.
- [11] Global Cancer Observatory, Cancer Tomorrow, *Int. Agency Res. Cancer*. (2021). <https://gco.iarc.fr/tomorrow/en/dataviz/isotype>.
- [12] M. da S. DATASUS, MS/SVS/CGIAE - Sistema de Informações sobre Mortalidade, (2019). <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sim/cnv/obt10uf.def>.
- [13] H. Sung, J. Ferlay, R.L. Siegel, M. Laversanne, I. Soerjomataram, A. Jemal, F. Bray, Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries, *CA. Cancer J. Clin.* 71 (2021) 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>.
- [14] M. da S. Câncer, Instituto Nacional de, Estatísticas de Câncer, (2021). <https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>.
- [15] S. Cauteruccio, E. Licandro, M. Panigati, G. D'Alfonso, S. Maiorana, Modifying the properties of organic molecules by conjugation with metal complexes: The case of peptide nucleic acids and of the intrinsically chiral thiahelices, *Coord. Chem. Rev.* 386 (2019) 119–137. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2019.02.002>.
- [16] J. Li, T. Chen, Transition metal complexes as photosensitizers for integrated cancer theranostic applications, *Coord. Chem. Rev.* 418 (2020) 213355. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213355>.
- [17] C.N. Ko, G. Li, C.H. Leung, D.L. Ma, Dual function luminescent transition metal complexes for cancer theranostics: The combination of diagnosis and therapy, *Coord. Chem. Rev.* 381 (2019) 79–103. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2018.11.013>.
- [18] Y.O. Ayipo, W.A. Osunniran, M.N. Mordi, Metal complexes of β -carboline: Advances in anticancer therapeutics, *Coord. Chem. Rev.* 432 (2021) 213746. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213746>.
- [19] K. Qiu, Y. Chen, T.W. Rees, L. Ji, H. Chao, Organelle-targeting metal complexes: From molecular design to bio-applications, *Coord. Chem. Rev.*

- 378 (2019) 66–86. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2017.10.022>.
- [20] K.D. Mjos, C. Orvig, Metallodrugs in medicinal inorganic chemistry, *Chem. Rev.* 114 (2014) 4540–4563. <https://doi.org/10.1021/cr400460s>.
- [21] I. Yousuf, M. Bashir, F. Arjmand, S. Tabassum, Advancement of metal compounds as therapeutic and diagnostic metallodrugs: Current frontiers and future perspectives, *Coord. Chem. Rev.* 445 (2021) 214104. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2021.214104>.
- [22] C. Orvig, M.J. Abrams, Medicinal Inorganic Chemistry: Introduction, *Chem. Rev.* 99 (1999) 2201–2204. <https://doi.org/10.1021/cr980419w>.
- [23] A. Werner, Beitrag zur Konstitution anorganischer Verbindungen, *Zeitschrift Für Anorg. Chemie.* 3 (1893) 267–330. <https://doi.org/10.1002/zaac.18930030136>.
- [24] K.-H. Ernst, H. Berke, Optical activity and Alfred Werner's coordination chemistry, *Chirality.* 23 (2011) 187–189. <https://doi.org/10.1002/chir.20912>.
- [25] R.G. Kenny, C.J. Marmion, Toward Multi-Targeted Platinum and Ruthenium Drugs—A New Paradigm in Cancer Drug Treatment Regimens?, *Chem. Rev.* 119 (2019) 1058–1137. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00271>.
- [26] N.C. Lloyd, H.W. Morgan, B.K. Nicholson, R.S. Ronimus, The composition of Ehrlich's salvarsan: resolution of a century-old debate., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 44 (2005) 941–4. <https://doi.org/10.1002/anie.200461471>.
- [27] E.J. Anthony, E.M. Bolitho, H.E. Bridgewater, O.W.L. Carter, J.M. Donnelly, C. Imberti, E.C. Lant, F. Lermyte, R.J. Needham, M. Palau, P.J. Sadler, H. Shi, F.-X. Wang, W.-Y. Zhang, Z. Zhang, Metallodrugs are unique: opportunities and challenges of discovery and development, *Chem. Sci.* 11 (2020) 12888–12917. <https://doi.org/10.1039/D0SC04082G>.
- [28] G. Vernon, Syphilis and Salvarsan, *Br. J. Gen. Pract.* 69 (2019) 246–246. <https://doi.org/10.3399/bjgp19X702533>.
- [29] B. ROSENBERG, L. VAN CAMP, T. KRIGAS, Inhibition of Cell Division in *Escherichia coli* by Electrolysis Products from a Platinum Electrode, *Nature.* 205 (1965) 698–699. <https://doi.org/10.1038/205698a0>.

- [30] B. Rosenberg, E. Renshaw, L. Vancamp, J. Hartwick, J. Drobnik, Platinum-induced filamentous growth in *Escherichia coli*., *J. Bacteriol.* 93 (1967) 716–721. <https://doi.org/10.1128/jb.93.2.716-721.1967>.
- [31] B. Rosenberg, Platinum complexes for the treatment of Cancer, *Interdiscip. Sci. Rev.* 3 (1978) 134–147. <https://doi.org/10.1179/030801878791926119>.
- [32] T.G. Towne, A. Murray, *Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug*, Wiley, 1999. <https://doi.org/10.1002/9783906390420>.
- [33] B. Rosenberg, L. Van Camp, E.B. Grimley, A.J. Thomson, The inhibition of growth or cell division in *Escherichia coli* by different ionic species of platinum(IV) complexes., *J. Biol. Chem.* 242 (1967) 1347–1352.
- [34] G.B. Kauffman, R. Pentimalli, S. Doldi, M.D. Hall, Michele Peyrone (1813–1883), discoverer of Cisplatin, *Platin. Met. Rev.* 54 (2010) 250–256. <https://doi.org/10.1595/147106710X534326>.
- [35] B. ROSENBERG, L. VANCAMP, Platinum Compounds: a New Class of Potent Antitumour Agents, *Nature.* 224 (1969) 488–490. <https://doi.org/10.1038/224488a0>.
- [36] B. Rosenberg, L. VanCamp, The Successful Regression of Large Solid Sarcoma 180 Tumors by Platinum Compounds, *Cancer Res.* 30 (1970) 1799–1802.
- [37] N. Farrell, Biomedical uses and applications of inorganic chemistry. An overview, *Coord. Chem. Rev.* 232 (2002) 1–4. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(02\)00100-5](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(02)00100-5).
- [38] P.F. Salas, C. Herrmann, C. Orvig, Metalloantimalarials, *Chem. Rev.* 113 (2013) 3450–3492. <https://doi.org/10.1021/cr3001252>.
- [39] B. Englinger, C. Pirker, P. Heffeter, A. Terenzi, C.R. Kowol, B.K. Keppler, W. Berger, Metal Drugs and the Anticancer Immune Response, *Chem. Rev.* 119 (2019) 1519–1624. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00396>.
- [40] L. Viganor, C. Skerry, M. McCann, M. Devereux, Tuberculosis: An Inorganic Medicinal Chemistry Perspective, *Curr. Med. Chem.* 22 (2015) 2199–2224. <https://doi.org/10.2174/0929867322666150408112357>.

- [41] M. Gil-Moles, U. Basu, R. Büssing, H. Hoffmeister, S. Türck, A. Varchmin, I. Ott, Gold Metallodrugs to Target Coronavirus Proteins: Inhibitory Effects on the Spike-ACE2 Interaction and on PLpro Protease Activity by Auranofin and Gold Organometallics**, *Chem. – A Eur. J.* 26 (2020) 15140–15144. <https://doi.org/10.1002/chem.202004112>.
- [42] S. Dilruba, G. V. Kalayda, Platinum-based drugs: past, present and future, *Cancer Chemother. Pharmacol.* 77 (2016) 1103–1124. <https://doi.org/10.1007/s00280-016-2976-z>.
- [43] K.M. Deo, D.L. Ang, B. McGhie, A. Rajamanickam, A. Dhiman, A. Khoury, J. Holland, A. Bjelosevic, B. Pages, C. Gordon, J.R. Aldrich-Wright, Platinum coordination compounds with potent anticancer activity, *Coord. Chem. Rev.* 375 (2018) 148–163. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2017.11.014>.
- [44] B. Rosenberg, Platinum coordination complexes in cancer chemotherapy, *Naturwissenschaften.* 60 (1973) 399–406. <https://doi.org/10.1007/BF00623551>.
- [45] S. Ahmad, Kinetic aspects of platinum anticancer agents, *Polyhedron.* 138 (2017) 109–124. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2017.09.016>.
- [46] R.K. Singh, S. Kumar, D.N. Prasad, T.R. Bhardwaj, Therapeutic journey of nitrogen mustard as alkylating anticancer agents: Historic to future perspectives, *Eur. J. Med. Chem.* 151 (2018) 401–433. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.04.001>.
- [47] A. Bergamo, P.J. Dyson, G. Sava, The mechanism of tumour cell death by metal-based anticancer drugs is not only a matter of DNA interactions, *Coord. Chem. Rev.* 360 (2018) 17–33. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2018.01.009>.
- [48] P.M. Takahara, A.C. Rosenzweig, C.A. Frederick, S.J. Lippard, Crystal structure of double-stranded DNA containing the major adduct of the anticancer drug cisplatin, *Nature.* 377 (1995) 649–652. <https://doi.org/10.1038/377649a0>.
- [49] N.J. Wheate, S. Walker, G.E. Craig, R. Oun, The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials, *Dalt. Trans.* 39 (2010)

- 8113–8127. <https://doi.org/10.1039/c0dt00292e>.
- [50] M.G. Apps, E.H.Y. Choi, N.J. Wheate, The state-of-play and future of platinum drugs, *Endocr. Relat. Cancer*. 22 (2015) R219–R233. <https://doi.org/10.1530/ERC-15-0237>.
- [51] B. Spingler, D.A. Whittington, S.J. Lippard, 2.4 Å Crystal Structure of an Oxaliplatin 1,2-d(GpG) Intrastrand Cross-Link in a DNA Dodecamer Duplex, *Inorg. Chem.* 40 (2001) 5596–5602. <https://doi.org/10.1021/ic010790t>.
- [52] T. Makovec, Cisplatin and beyond: molecular mechanisms of action and drug resistance development in cancer chemotherapy, *Radiol. Oncol.* 53 (2019) 148–158. <https://doi.org/10.2478/raon-2019-0018>.
- [53] D.E.S. Silva, A.B. Becceneri, M.C. Solcia, J.V.B. Santiago, M.B. Moreira, J.A. Gomes Neto, F.R. Pavan, M.R. Cominetti, J.C.M. Pereira, A.V.G. Netto, Cytotoxic and apoptotic effects of ternary silver(i) complexes bearing 2-formylpyridine thiosemicarbazones and 1,10-phenanthroline, *Dalt. Trans.* 49 (2020) 5264–5275. <https://doi.org/10.1039/d0dt00253d>.
- [54] R.L. Farias, A.M.R. Polez, D.E.S. Silva, R.D. Zanetti, M.B. Moreira, V.S. Batista, B.L. Reis, N.M. Nascimento-Júnior, F.V. Rocha, M.A. Lima, A.B. Oliveira, J. Ellena, C.B. Scarim, C.R. Zambom, L.D. Brito, S.S. Garrido, A.P.L. Melo, L. Bresolin, B. Tirloni, J.C.M. Pereira, A.V.G. Netto, In vitro and in silico assessment of antitumor properties and biomolecular binding studies for two new complexes based on NiII bearing k²N,S-donor ligands, *Mater. Sci. Eng. C*. 121 (2021) 111815. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111815>.
- [55] R.F.F. de Souza, G.A. da Cunha, J.C.M. Pereira, D.M. Garcia, C. Bincoletto, R.N. Goto, A.M. Leopoldino, I.C. da Silva, F.R. Pavan, V.M. Deflon, E.T. de Almeida, A.E. Mauro, A.V.G. Netto, Orthopalladated acetophenone oxime compounds bearing thioamides as ligands: Synthesis, structure and cytotoxic evaluation, *Inorganica Chim. Acta*. 486 (2019) 617–624. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2018.11.022>.
- [56] S. Ghosh, Cisplatin: The first metal based anticancer drug, *Bioorg. Chem.* 88 (2019) 102925. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.102925>.

- [57] J.-X. Liang, H.-J. Zhong, G. Yang, K. Vellaisamy, D.-L. Ma, C.-H. Leung, Recent development of transition metal complexes with in vivo antitumor activity, *J. Inorg. Biochem.* 177 (2017) 276–286. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2017.06.002>.
- [58] The U.S. Food and Drug Administration, Sponsor Briefing Document Oncologic Drugs Advisory Committee, U.S. Food Drug Adm. (2020) 1–112. <https://www.fda.gov/media/135457/download>.
- [59] J. Dehand, M. Pfeffer, Cyclometallated compounds, *Coord. Chem. Rev.* 18 (1976) 327–352. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(00\)80431-2](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(00)80431-2).
- [60] J. Dupont, M. Pfeffer, *Palladacycles: Synthesis, Characterization and Applications*, Wiley, 2008.
- [61] J. Dupont, C.S. Consorti, J. Spencer, The Potential of Palladacycles: More Than Just Precatalysts, *Chem. Rev.* 105 (2005) 2527–2572. <https://doi.org/10.1021/cr030681r>.
- [62] G.A. da Cunha, R.F.F. de Souza, R.L. de Farias, M.B. Moreira, D.E.S. Silva, R.D. Zanetti, D.M. Garcia, D.G. Spindola, L.F.G. Michelin, C. Bincoletto, A.A. de Souza, A.A. Antunes, W.A. d. S. Judice, R.C.F. Leitao, V.M. Deflon, A.E. Mauro, A.V.G. Netto, Cyclopalladated compounds containing 2,6-lutidine: Synthesis, spectral and biological studies, *J. Inorg. Biochem.* 203 (2020) 110944. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.110944>.
- [63] E. Alacid, D.A. Alonso, L. Botella, C. Nájera, M.C. Pacheco, Oxime palladacycles revisited: stone-stable complexes nonetheless very active catalysts, *Chem. Rec.* 6 (2006) 117–132. <https://doi.org/10.1002/tcr.20077>.
- [64] M. Ghedini, I. Aiello, A. Crispini, A. Golemme, M. La Deda, D. Pucci, Azobenzenes and heteroaromatic nitrogen cyclopalladated complexes for advanced applications, *Coord. Chem. Rev.* 250 (2006) 1373–1390. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2005.12.011>.
- [65] W. Chen, P. Cai, P. Elumalai, P. Zhang, L. Feng, M. Al-Rawashdeh, S.T. Madrahimov, H.-C. Zhou, Site-Isolated Azobenzene-Containing Metal–Organic Framework for Cyclopalladated Catalyzed Suzuki-Miyaura Coupling in Flow, *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 13 (2021) 51849–51854.

- <https://doi.org/10.1021/acsami.1c03607>.
- [66] H. Zhang, T. Jiang, J. Zhang, H. Huang, Catalytic Reactions Directed by a Structurally Well-Defined Aminomethyl Cyclopalladated Complex, *Acc. Chem. Res.* **54** (2021) 4305–4318. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.1c00365>.
- [67] P. Agarwal, N. Thirupathi, M. Nethaji, Syntheses, Structural Aspects, Solution Behavior, and Catalytic Utility of Cyclopalladated N,N',N''-Triarylguanidines [$\kappa^2(C, N)$]Pd(Pyrazole)₂X] (X = Br, OC(O)CF₃, and PF₆) in Suzuki–Miyaura Coupling Reactions of Aryl Bromides, *Organometallics*. **35** (2016) 3112–3123. <https://doi.org/10.1021/acs.organomet.6b00442>.
- [68] Z. Xue, P. Huang, T. Li, P. Qin, D. Xiao, M. Liu, P. Chen, Y. Wu, A novel “tunnel-like” cyclopalladated arylimine catalyst immobilized on graphene oxide nano-sheet, *Nanoscale*. **9** (2017) 781–791. <https://doi.org/10.1039/C6NR07521E>.
- [69] E.G. Rodrigues, L.S. Silva, D.M. Fausto, M.S. Hayashi, S. Dreher, E.L. Santos, J.B. Pesquero, L.R. Travassos, A.C.F. Caires, Cyclopalladated compounds as chemotherapeutic agents: Antitumor activity against a murine melanoma cell line, *Int. J. Cancer*. **107** (2003) 498–504. <https://doi.org/10.1002/ijc.11434>.
- [70] F.A. Serrano, A.L. Matsuo, P.T. Monteforte, A. Bechara, S.S. Smaili, D.P. Santana, T. Rodrigues, F. V Pereira, L.S. Silva, J. Machado, E.L. Santos, J.B. Pesquero, R.M. Martins, L.R. Travassos, A.C. Caires, E.G. Rodrigues, A cyclopalladated complex interacts with mitochondrial membrane thiol-groups and induces the apoptotic intrinsic pathway in murine and cisplatin-resistant human tumor cells, *BMC Cancer*. **11** (2011) 296. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-11-296>.
- [71] V.Y. Kukushkin, A.J.L. Pombeiro, Oxime and oximate metal complexes: unconventional synthesis and reactivity, *Coord. Chem. Rev.* **181** (1999) 147–175. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(98\)00215-X](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(98)00215-X).
- [72] C.J. Milios, T.C. Stamatatos, S.P. Perlepes, The coordination chemistry of pyridyl oximes, *Polyhedron*. **25** (2006) 134–194.

- <https://doi.org/10.1016/j.poly.2005.07.022>.
- [73] J.D. Higgins, L. Neely, S. Fricker, J. Matthey, Synthesis and cytotoxicity of some cyclometallated palladium complexes, *J. Inorg. Biochem.* 49 (1993) 149–156. [https://doi.org/10.1016/0162-0134\(93\)85023-2](https://doi.org/10.1016/0162-0134(93)85023-2).
- [74] N. Thomazella, S. Lemos, R. Souza, R. Souza, A. Mauro, I. Carlos, A.V.G. Netto, Síntese, Caracterização E Avaliação Da Atividade Citotóxica De Compostos Ciclopalladados Contendo Como Ligantes Benzaldeidoxima Ortometalada E Etilenotriuréia, *Quim. Nova.* (2018). <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170293>.
- [75] R.P. Tenório, A.J.S. Góes, J.G. de Lima, A.R. de Faria, A.J. Alves, T.M. de Aquino, Tiossemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica, *Quim. Nova.* 28 (2005) 1030–1037. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000600018>.
- [76] J.S. Casas, M.S. García-Tasende, J. Sordo, Main group metal complexes of semicarbazones and thiosemicarbazones. A structural review, *Coord. Chem. Rev.* 209 (2000) 197–261. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(00\)00363-5](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(00)00363-5).
- [77] J.F. de Oliveira, A.L. da Silva, D.B. Vendramini-Costa, C.A. da Cruz Amorim, J.F. Campos, A.G. Ribeiro, R. Olímpio de Moura, J.L. Neves, A.L.T.G. Ruiz, J. Ernesto de Carvalho, M. do C. Alves de Lima, Synthesis of thiophene-thiosemicarbazone derivatives and evaluation of their in vitro and in vivo antitumor activities, *Eur. J. Med. Chem.* 104 (2015) 148–156. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.09.036>.
- [78] D.S. Kalinowski, P. Quach, D.R. Richardson, Thiosemicarbazones: the new wave in cancer treatment, *Future Med. Chem.* 1 (2009) 1143–1151. <https://doi.org/10.4155/fmc.09.80>.
- [79] S.F.P. Braga, N.C. Fonseca, J.P. Ramos, E.M. de Souza-Fagundes, R.B. de Oliveira, Synthesis and cytotoxicity evaluation of thiosemicarbazones and their thiazole derivatives, *Brazilian J. Pharm. Sci.* 52 (2016) 299–308. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502016000200008>.
- [80] G.P. Volynets, M.A. Tukalo, V.G. Bdzhola, N.M. Derkach, M.I. Gumeniuk, S.S. Tarnavskiy, S.A. Starosyla, S.M. Yarmoluk, Benzaldehyde

- thiosemicarbazone derivatives against replicating and nonreplicating *Mycobacterium tuberculosis*, *J. Antibiot. (Tokyo)*. 72 (2019) 218–224. <https://doi.org/10.1038/s41429-019-0140-9>.
- [81] M.A. Soares, M.A. Almeida, C. Marins-Goulart, O.A. Chaves, A. Echevarria, M.C.C. de Oliveira, Thiosemicarbazones as inhibitors of tyrosinase enzyme, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 27 (2017) 3546–3550. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.05.057>.
- [82] R. Matsa, P. Makam, M. Kaushik, S.L. Hoti, T. Kannan, Thiosemicarbazone derivatives: Design, synthesis and in vitro antimalarial activity studies, *Eur. J. Pharm. Sci.* 137 (2019) 104986. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.104986>.
- [83] P. Linciano, C.B. Moraes, L.M. Alcantara, C.H. Franco, B. Pascoalino, L.H. Freitas-Junior, S. Macedo, N. Santarem, A. Cordeiro-da-Silva, S. Gul, G. Witt, M. Kuzikov, B. Ellinger, S. Ferrari, R. Luciani, A. Quotadamo, L. Costantino, M.P. Costi, Aryl thiosemicarbazones for the treatment of trypanosomatidic infections, *Eur. J. Med. Chem.* 146 (2018) 423–434. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.01.043>.
- [84] A.E. Stacy, D. Palanimuthu, P. V. Bernhardt, D.S. Kalinowski, P.J. Jansson, D.R. Richardson, Zinc(II)–Thiosemicarbazone Complexes Are Localized to the Lysosomal Compartment Where They Transmetallate with Copper Ions to Induce Cytotoxicity, *J. Med. Chem.* 59 (2016) 4965–4984. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00238>.
- [85] K. Ohui, E. Afanasenko, F. Bacher, R.L.X. Ting, A. Zafar, N. Blanco-Cabra, E. Torrents, O. Dömötör, N. V. May, D. Darvasiova, É.A. Enyedy, A. Popović-Bijelić, J. Reynisson, P. Raptá, M. V. Babak, G. Pastorin, V.B. Arion, New Water-Soluble Copper(II) Complexes with Morpholine–Thiosemicarbazone Hybrids: Insights into the Anticancer and Antibacterial Mode of Action, *J. Med. Chem.* 62 (2019) 512–530. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01031>.
- [86] D.X. West, S.B. Padhye, P.B. Sonawane, Structural and physical correlations in the biological properties of transition metal heterocyclic thiosemicarbazone and S-alkyldithiocarbazate complexes, in: 1991: pp. 1–

50. https://doi.org/10.1007/3-540-53499-7_1.
- [87] T.S. Lobana, Rekha, R.J. Butcher, A. Castineiras, E. Bermejo, P. V. Bharatam, Bonding Trends of Thiosemicarbazones in Mononuclear and Dinuclear Copper(I) Complexes: Syntheses, Structures, and Theoretical Aspects, *Inorg. Chem.* 45 (2006) 1535–1542. <https://doi.org/10.1021/ic051018j>.
- [88] S. Padhye, Z. Afrasiabi, E. Sinn, J. Fok, K. Mehta, N. Rath, Antitumor Metallothiosemicarbazones: Structure and Antitumor Activity of Palladium Complex of Phenanthrenequinone Thiosemicarbazone, *Inorg. Chem.* 44 (2005) 1154–1156. <https://doi.org/10.1021/ic048214v>.
- [89] A.I. Matesanz, A.B. Caballero, C. Lorenzo, A. Espargaró, R. Sabaté, A.G. Quiroga, P. Gamez, Thiosemicarbazone Derivatives as Inhibitors of Amyloid- β Aggregation: Effect of Metal Coordination, *Inorg. Chem.* 59 (2020) 6978–6987. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.0c00467>.
- [90] G. Pelosi, F. Bisceglie, F. Bignami, P. Ronzi, P. Schiavone, M.C. Re, C. Casoli, E. Pilotti, Antiretroviral Activity of Thiosemicarbazone Metal Complexes, *J. Med. Chem.* 53 (2010) 8765–8769. <https://doi.org/10.1021/jm1007616>.
- [91] C. Guo, L. Wang, X. Li, S. Wang, X. Yu, K. Xu, Y. Zhao, J. Luo, X. Li, B. Jiang, D. Shi, Discovery of Novel Bromophenol–Thiosemicarbazone Hybrids as Potent Selective Inhibitors of Poly(ADP-ribose) Polymerase-1 (PARP-1) for Use in Cancer, *J. Med. Chem.* 62 (2019) 3051–3067. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01946>.
- [92] S. Plamthottam, D. Sun, J. Van Valkenburgh, J. Valenzuela, B. Ruehle, D. Steele, S. Poddar, M. Marshalik, S. Hernandez, C.G. Radu, J.I. Zink, Activity and electrochemical properties: iron complexes of the anticancer drug triapine and its analogs, *JBIC J. Biol. Inorg. Chem.* 24 (2019) 621–632. <https://doi.org/10.1007/s00775-019-01675-0>.
- [93] J.G. Cory, A.H. Cory, G. Rappa, A. Lorico, L. Mao-Chin, L. Tai-Shun, A.C. Sartorelli, Inhibitors of ribonucleotide reductase, *Biochem. Pharmacol.* 48 (1994) 335–344. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(94\)90105-8](https://doi.org/10.1016/0006-2952(94)90105-8).
- [94] T. Chapman, Ribonucleotide reductase inhibitors: a new look at an old

- target for radiosensitization, *Front. Oncol.* 1 (2012). <https://doi.org/10.3389/fonc.2011.00056>.
- [95] J. Shao, B. Zhou, B. Chu, Y. Yen, Ribonucleotide Reductase Inhibitors and Future Drug Design, *Curr. Cancer Drug Targets.* 6 (2006) 409–431. <https://doi.org/10.2174/156800906777723949>.
- [96] R.A. Finch, M.-C. Liu, A.H. Cory, J.G. Cory, A.C. Sartorelli, Triapine (3-aminopyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone; 3-AP): an inhibitor of ribonucleotide reductase with antineoplastic activity, *Adv. Enzyme Regul.* 39 (1999) 3–12. [https://doi.org/10.1016/S0065-2571\(98\)00017-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2571(98)00017-X).
- [97] J. Kolesar, R.C. Brundage, M. Pomplun, D. Alberti, K. Holen, A. Traynor, P. Ivy, G. Wilding, Population pharmacokinetics of 3-aminopyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone (Triapine®) in cancer patients, *Cancer Chemother. Pharmacol.* 67 (2011) 393–400. <https://doi.org/10.1007/s00280-010-1331-z>.
- [98] B.Z. Sibuh, P.K. Gupta, P. Taneja, S. Khanna, P. Sarkar, S. Pachisia, A.A. Khan, N.K. Jha, K. Dua, S.K. Singh, S. Pandey, P. Slama, K.K. Kesari, S. Roychoudhury, Synthesis, In Silico Study, and Anti-Cancer Activity of Thiosemicarbazone Derivatives, *Biomedicines.* 9 (2021) 1375. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9101375>.
- [99] S. Shahriar, S. M. S; Ali, S. M. M; Jesmin, M; Islam, M. K; Mondal, In vivo anticancer activity of vanillin, benzophenone and acetophenone thiosemicarbazones on Swiss albino mice, *J. Coast. Life Med.* (2014). <https://doi.org/10.12980/JCLM.2.201414B35>.
- [100] F.Z. Mohammed, Y.W. Rizzk, I.M. El Deen, A.A.E. Mourad, M. El Behery, Design, Synthesis, Cytotoxic Screening and Molecular Docking Studies of Novel Hybrid Thiosemicarbazone Derivatives as Anticancer Agents, *Chem. Biodivers.* 18 (2021). <https://doi.org/10.1002/cbdv.202100580>.
- [101] A.A.E. Mourad, Y.W. Rizzk, I. Zaki, F.Z. Mohammed, M. El Behery, Synthesis and cytotoxicity screening of some synthesized hybrid nitrogen molecules as anticancer agents, *J. Mol. Struct.* 1242 (2021) 130722. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130722>.
- [102] D.E.S. Silva, A.B. Becceneri, J.V.B. Santiago, J.A. Gomes Neto, J. Ellena,

- M.R. Cominetti, J.C.M. Pereira, M.J. Hannon, A.V.G. Netto, Silver(Ag^+) complexes of 3-methoxy-4-hydroxybenzaldehyde thiosemicarbazones and triphenylphosphine: structural, cytotoxicity, and apoptotic studies, *Dalt. Trans.* 49 (2020) 16474–16487. <https://doi.org/10.1039/D0DT01134G>.
- [103] S. Konstantinovic, B. Radovanovic, Z. Todorovic, S. Ilic, Spectrophotometric study of Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), Pd(II) and Hg(II) complexes with isatin- β -thiosemicarbazone, *J. Serbian Chem. Soc.* 72 (2007) 975–981. <https://doi.org/10.2298/JSC0710975K>.
- [104] C.G. Oliveira, I. Romero-Canelón, J.P.C. Coverdale, P.I.S. Maia, G.J. Clarkson, V.M. Deflon, P.J. Sadler, Novel tetranuclear Pd II and Pt II anticancer complexes derived from pyrene thiosemicarbazones, *Dalt. Trans.* 49 (2020) 9595–9604. <https://doi.org/10.1039/D0DT01133A>.
- [105] M.X. Li, J. Zhou, Z.L. Wang, J.P. Wang, Synthesis, Crystal Structure and Antitumor Study of a Cobalt(II) Complex of the 2-Acetylpyrazine Thiosemicarbazone, *Zeitschrift Für Naturforsch. B.* 63 (2008) 1–5. <https://doi.org/10.1515/znb-2008-0101>.
- [106] E.A. Nyawade, N.R.S. Sibuyi, M. Meyer, R. Lalancette, M.O. Onani, Synthesis, characterization and anticancer activity of new 2-acetyl-5-methyl thiophene and cinnamaldehyde thiosemicarbazones and their palladium(II) complexes, *Inorganica Chim. Acta.* 515 (2021) 120036. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2020.120036>.
- [107] D. Fabra, A.I. Matesanz, J.M. Herrero, C. Alvarez, L.M. Balsa, I.E. Leon, A.G. Quiroga, Two Different Thiosemicarbazone Tauto-Conformers Coordinate to Palladium (II). Stability and Biological Studies of the Final Complexes, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2021 (2021) 1041–1049. <https://doi.org/10.1002/ejic.202001066>.
- [108] D. Anu, P. Naveen, N.P. Rath, M.V. Kaveri, Palladium (II) complexes containing substituted thiosemicarbazones. Synthesis, spectral characterization, X-ray crystallography, biomolecular interactions and in vitro cytotoxicity, *J. Mol. Struct.* 1206 (2020) 127703. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.127703>.

- [109] G. Munikumari, R. Konakanchi, V.B. Nishtala, G. Ramesh, L.R. Kotha, K.B. Chandrasekhar, C. Ramachandraiah, Palladium(II) complexes of 5-substituted isatin thiosemicarbazones: Synthesis, spectroscopic characterization, biological evaluation and in silico docking studies, *Synth. Commun.* 49 (2019) 146–158. <https://doi.org/10.1080/00397911.2018.1546400>.
- [110] A.C.F. Caires, Recent Advances Involving Palladium (II) Complexes for the Cancer Therapy, *Anticancer. Agents Med. Chem.* 7 (2007) 484–491. <https://doi.org/10.2174/187152007781668661>.
- [111] T.J. Carneiro, A.S. Martins, M.P.M. Marques, A.M. Gil, Metabolic Aspects of Palladium(II) Potential Anti-Cancer Drugs, *Front. Oncol.* 10 (2020). <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.590970>.
- [112] F. V. Rocha, R.L. Farias, M.A. Lima, V.S. Batista, N.M. Nascimento-Júnior, S.S. Garrido, A.M. Leopoldino, R.N. Goto, A.B. Oliveira, J. Beck, C. Landvogt, A.E. Mauro, A.V.G. Netto, Computational studies, design and synthesis of Pd(II)-based complexes: Allosteric inhibitors of the Human Topoisomerase-II α , *J. Inorg. Biochem.* 199 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.110725>.
- [113] M.A. Lima, V.A. Costa, M.A. Franco, G.P. de Oliveira, V.M. Deflon, F.V. Rocha, Palladium(II) complexes bearing thiosemicarbazone and phosphines as inhibitors of DNA-Topoisomerase II enzyme: Synthesis, characterizations and biological studies, *Inorg. Chem. Commun.* 112 (2020) 107708. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2019.107708>.
- [114] J. Haribabu, M.M. Tamizh, C. Balachandran, Y. Arun, N.S.P. Bhuvanesh, A. Endo, R. Karvembu, Synthesis, structures and mechanistic pathways of anticancer activity of palladium(Pd^{II}) complexes with indole-3-carbaldehyde thiosemicarbazones, *New J. Chem.* 42 (2018) 10818–10832. <https://doi.org/10.1039/C7NJ03743K>.
- [115] L. Fuentes, A.G. Quiroga, J.A. Organero, A.I. Matesanz, Exploring DNA binding ability of two novel α -N-heterocyclic thiosemicarbazone palladium(II) complexes, *J. Inorg. Biochem.* 203 (2020) 110875. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.110875>.

- [116] J. Haribabu, S. Srividya, D. Mahendiran, D. Gayathri, V. Venkatramu, N. Bhuvanesh, R. Karvembu, Synthesis of Palladium(II) Complexes via Michael Addition: Antiproliferative Effects through ROS-Mediated Mitochondrial Apoptosis and Docking with SARS-CoV-2, *Inorg. Chem.* 59 (2020) 17109–17122. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.0c02373>.
- [117] J.E. House, K.A. House, *Descriptive Inorganic Chemistry*, 2016. <https://doi.org/10.1016/c2014-0-02460-4>.
- [118] W. Zeng, T. Liu, D. Liu, E. Han, Hydrogen sensing and mechanism of M-doped SnO₂ (M=Cr³⁺, Cu²⁺ and Pd²⁺) nanocomposite, *Sensors Actuators B Chem.* 160 (2011) 455–462. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2011.08.008>.
- [119] K. Kavi Rasu, P. Sakthivel, G.K.D. Prasanna Venkatesan, Effect of Pd²⁺ co-doping on the structural and optical properties of Mn²⁺:ZnS nanoparticles, *Opt. Laser Technol.* 130 (2020) 106365. <https://doi.org/10.1016/j.optlastec.2020.106365>.
- [120] R.D. Shannon, Revised effective ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides, *Acta Crystallogr. Sect. A.* 32 (1976) 751–767. <https://doi.org/10.1107/S0567739476001551>.
- [121] M. Fanelli, M. Formica, V. Fusi, L. Giorgi, M. Micheloni, P. Paoli, New trends in platinum and palladium complexes as antineoplastic agents, *Coord. Chem. Rev.* 310 (2016) 41–79. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2015.11.004>.
- [122] S. Medici, M. Peana, V.M. Nurchi, J.I. Lachowicz, G. Crisponi, M.A. Zoroddu, Noble metals in medicine: Latest advances, *Coord. Chem. Rev.* 284 (2015) 329–350. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.08.002>.
- [123] M. Fanelli, M. Formica, V. Fusi, L. Giorgi, M. Micheloni, P. Paoli, New trends in platinum and palladium complexes as antineoplastic agents, *Coord. Chem. Rev.* 310 (2016) 41–79. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2015.11.004>.
- [124] S.J. Berners-Price, P.J. Sadler, Phosphines and metal phosphine complexes: Relationship of chemistry to anticancer and other biological activity, in: Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 1988: pp. 27–

102. https://doi.org/10.1007/3-540-50130-4_2.
- [125] G.W. Buchanan, B.A. Dawson, Stereochemical analysis of aromatic oximes. ^{13}C - ^{15}N nuclear spin coupling and ^{13}C shieldings as conformational probes, *Can. J. Chem.* 56 (1978) 2200–2204. <https://doi.org/10.1139/v78-361>.
- [126] A.D. Ryabov, G.M. Kazankov, A.K. Yatsimirsky, L.G. Kuz'mina, O.Y. Burtseva, N. V. Dvortsova, V.A. Polyakov, Synthesis by Ligand Exchange, Structural Characterization, and Aqueous Chemistry of Ortho-Palladated Oximes, *Inorg. Chem.* 31 (1992) 3083–3090. <https://doi.org/10.1021/ic00040a018>.
- [127] G.A. da Cunha, R.F.F. de Souza, R.L. de Farias, M.B. Moreira, D.E.S. Silva, R.D. Zanetti, D.M. Garcia, D.G. Spindola, L.F.G. Michelin, C. Bincoletto, A.A. de Souza, A.A. Antunes, W.A. de S. Judice, R.C.F. Leitaó, V.M. Deflon, A.E. Mauro, A.V.G. Netto, Cyclopalladated compounds containing 2,6-lutidine: Synthesis, spectral and biological studies, *J. Inorg. Biochem.* 203 (2020) 110944. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.110944>.
- [128] E.T. de Almeida, A.E. Mauro, A.M. Santana, S.R. Ananias, A.V.G. Netto, J.G. Ferreira, R.H.A. Santos, Self-assembly of organometallic Pd(II) complexes via $\text{CH}_3\cdots\pi$ interactions: The first example of a cyclopalladated compound with herringbone stacking pattern, *Inorg. Chem. Commun.* 10 (2007) 1394–1398. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2007.08.020>.
- [129] V. a. d. L. Neto, A. Mauro, A. c. f. Caires, S. Ananias, E. De Almeida, Synthesis, characterization and thermal behavior of cyclopalladated compounds of the type $[\text{Pd}\{\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2\}(\mu\text{-X})_2]$ ($\text{X}=\text{Cl}$, nco, SCN, CN), *Polyhedron*. 18 (1998) 413–417. [https://doi.org/10.1016/S0277-5387\(98\)00310-6](https://doi.org/10.1016/S0277-5387(98)00310-6).
- [130] G.F. Bozza, R.L. de Farias, R.F.F. de Souza, F. V. Rocha, C. V. Barra, V.M. Deflon, E.T. de Almeida, A.E. Mauro, A.V.G. Netto, Palladium orthometallated complexes containing acetophenoneoxime: Synthesis, crystal structures and hirshfeld surface analysis, *J. Mol. Struct.* 1175 (2019) 195–207. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.07.108>.

- [131] O. Corportaion, Origin(Pro), (2019).
- [132] O. V. Dolomanov, L.J. Bourhis, R.J. Gildea, J.A.K. Howard, H. Puschmann, OLEX2 : a complete structure solution, refinement and analysis program, *J. Appl. Crystallogr.* 42 (2009) 339–341. <https://doi.org/10.1107/S0021889808042726>.
- [133] G.M. Sheldrick, SHELXT – Integrated space-group and crystal-structure determination, *Acta Crystallogr. Sect. A Found. Adv.* 71 (2015) 3–8. <https://doi.org/10.1107/S2053273314026370>.
- [134] G.M. Sheldrick, Crystal structure refinement with SHELXL, *Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.* 71 (2015) 3–8. <https://doi.org/10.1107/S2053229614024218>.
- [135] D.H.P. and D.K. Brandenburg, Crystal Impact GbR, (2006) 53227. <http://www.crystalimpact.com/diamond>.
- [136] C.F. Macrae, I.J. Bruno, J.A. Chisholm, P.R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, L. Rodriguez-Monge, R. Taylor, J. Van De Streek, P.A. Wood, Mercury CSD 2.0 - New features for the visualization and investigation of crystal structures, *J. Appl. Crystallogr.* 41 (2008) 466–470. <https://doi.org/10.1107/S0021889807067908>.
- [137] M.A. Spackman, D. Jayatilaka, Hirshfeld surface analysis, *CrystEngComm.* 11 (2009) 19–32. <https://doi.org/10.1039/b818330a>.
- [138] Ö. Özdemir, Bis-azo-linkage Schiff bases—Part(II): Synthesis, characterization, photoluminescence and DPPH radical scavenging properties of their novel luminescent mononuclear Zn(II) complexes, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 392 (2020) 112356. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2020.112356>.
- [139] T. Mosmann, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays, *J. Immunol. Methods.* 65 (1983) 55–63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4).
- [140] F. Hajibabaei, S. Salehzadeh, R. Golbedaghi, N. Hosseinpour Moghadam, S. Sharifinia, S. Khazalpour, Z. Baghaeifar, DNA binding and molecular docking studies of a new Cu(II) complex of isoxsuprine drug, *Polyhedron.* 162 (2019) 232–239. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2019.01.052>.

- [141] W. Villarreal, L. Colina-Vegas, G. Visbal, O. Corona, R.S. Corrêa, J. Ellena, M.R. Cominetti, A.A. Batista, M. Navarro, Copper(I)-Phosphine Polypyridyl Complexes: Synthesis, Characterization, DNA/HSA Binding Study, and Antiproliferative Activity, *Inorg. Chem.* 56 (2017) 3781–3793. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.6b02419>.
- [142] A. Andrés, M. Rosés, C. Ràfols, E. Bosch, S. Espinosa, V. Segarra, J.M. Huerta, Setup and validation of shake-flask procedures for the determination of partition coefficients (logD) from low drug amounts, *Eur. J. Pharm. Sci.* 76 (2015) 181–191. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2015.05.008>.
- [143] A.C. Copela, E.C. Friedrichlb, N,N-Dimethylbenzylamines, 65 (1962).
- [144] D.L. Davies, S.M.A. Donald, S.A. Macgregor, Computational study of the mechanism of cyclometalation by palladium acetate, *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005) 13754–13755. <https://doi.org/10.1021/ja052047w>.
- [145] R. Chamberlain, I.P. Rothwell, J.C. Huffmad, Intramolecular Activation, (1986) 1502–1509.
- [146] R.F.F. de Souza, G.A. da Cunha, J.C.M. Pereira, D.M. Garcia, C. Bincoletto, R.N. Goto, A.M. Leopoldino, I.C. da Silva, F.R. Pavan, V.M. Deflon, E.T. de Almeida, A.E. Mauro, A.V.G. Netto, Orthopalladated acetophenone oxime compounds bearing thioamides as ligands: Synthesis, structure and cytotoxic evaluation, *Inorganica Chim. Acta.* 486 (2019) 617–624. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2018.11.022>.
- [147] K. Selvakumar, S. Vancheesan, B. Varghese, Synthesis and characterization of cyclopalladated complexes of oximes by ligand-exchange method, *Polyhedron.* 16 (1997) 2257–2262. [https://doi.org/10.1016/S0277-5387\(96\)00535-9](https://doi.org/10.1016/S0277-5387(96)00535-9).
- [148] A.J. Nielson, Cyclopalladation of 1-tetralone (3,4-dihydronaphthalen-1-one) oximes, *J. Chem. Soc. Dalt. Trans.* (1981) 205. <https://doi.org/10.1039/dt9810000205>.
- [149] C.J. Milios, T.C. Stamatatos, S.P. Perlepes, The coordination chemistry of pyridyl oximes, *Polyhedron.* 25 (2006) 134–194. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2005.07.022>.

- [150] D. Black, G. Deacon, G. Edwards, Observations on the Mechanism of Halogen-Bridge Cleavage by Unidentate Ligands in Square Planar Palladium and Platinum Complexes, *Aust. J. Chem.* 47 (1994) 217. <https://doi.org/10.1071/ch9940217>.
- [151] C.A. Tolman, Steric Effects of Phosphorus Ligands in Organometallic Chemistry and Homogeneous Catalysis, *Chem. Rev.* 77 (1977) 313–348. <https://doi.org/10.1021/cr60307a002>.
- [152] D.L. Pavia, G.M. Lampman, G.S. Kriz, J.R. Vyvyan, *Introduction Spectroscopy*, 5th ed., CENGAGE Learning, 2015.
- [153] M.M. Aly, A.O. Baghlaf, N.S. Ganji, Linkage isomerism of the oximato group: The characterization of some mono- and binuclear square planar nickel(II) complexes of vicinal oxime-imine ligands, *Polyhedron*. 4 (1985) 1301–1309. [https://doi.org/10.1016/S0277-5387\(00\)84123-6](https://doi.org/10.1016/S0277-5387(00)84123-6).
- [154] H. Onoue, K. Minami, K. Nakagawa, Aromatic Metalation Reactions by Palladium(II) and Platinum(II) on Aromatic Aldoximes and Ketoximes, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 43 (1970) 3480–3485. <https://doi.org/10.1246/bcsj.43.3480>.
- [155] C. Bisi Castellani, O. Carugo, C. Tomba, V. Berbenni, S. Cinquetti, Studies on copper(II) complexes of o-quinone monooximes. 4. Interaction between aquobis(1,2-naphthoquinone 1-oximato)copper(II) and lanthanide(III) ions. New heteropolynuclear complexes containing CuII and LnIII, *Inorganica Chim. Acta*. 145 (1988) 157–161. [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(00\)82023-X](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(00)82023-X).
- [156] M.E. Keeney, K. Osseo-Asare, K.A. Woode, Transition metal hydroxyoxime complexes, *Coord. Chem. Rev.* 59 (1984) 141–201. [https://doi.org/10.1016/0010-8545\(84\)85054-7](https://doi.org/10.1016/0010-8545(84)85054-7).
- [157] K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, 2008. <https://doi.org/10.1002/9780470405888>.
- [158] P.S. Pregosin, ³¹P and ¹³C NMR studies on metal complexes of phosphorus-donors: Recognizing surprises, *Coord. Chem. Rev.* 252 (2008) 2156–2170. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2008.01.035>.
- [159] A. Blanckenberg, S. Aliwaini, S.W. Kimani, A. van Niekerk, A. Neumann-

- Mufweba, S. Prince, S.F. Mapolie, Preparation, characterization and evaluation of novel 1,3,5-triaza-7-phosphaadamantane (PTA)-based palladacycles as anti-cancer agents, *J. Organomet. Chem.* 851 (2017) 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2017.09.005>.
- [160] A.A. Isab, M.S. Hussain, M.N. Akhtar, M.I.M. Wazeer, A.R. Al-arfaj, P NMR study of the disproportionation of cyanogold (I), 18 (1999) 1401–1409. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0277-5387\(98\)00441-0](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0277-5387(98)00441-0).
- [161] P.S. Pregosin, ³¹P and ¹³C NMR studies on metal complexes of phosphorus-donors: Recognizing surprises, *Coord. Chem. Rev.* 252 (2008) 2156–2170. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2008.01.035>.
- [162] A. Vogler, H. Kunkely, Excited state properties of transition metal phosphine complexes, *Coord. Chem. Rev.* 230 (2002) 243–251. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(01\)00438-6](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(01)00438-6).
- [163] A.A. Batista, M.O. Santiago, C.L. Donnici, I.S. Moreira, P.C. Healy, S.J. Berners-Price, S.L. Queiroz, Electrochemical and spectroscopic studies on RuCl₂(PPh₃)₂(N)₂ and RuCl₂(PPh₃)₂(N-N) complexes (N = pyridine derivatives and N-N = phenanthroline or bipyridine derivatives). X-ray structure of RuCl₂(PPh₃)₂(phen), *Polyhedron*. 20 (2001) 2123–2128. [https://doi.org/10.1016/S0277-5387\(01\)00744-6](https://doi.org/10.1016/S0277-5387(01)00744-6).
- [164] R.H.A. Santos, S.J. Rettig, B.R. James, The reactivity of five-coordinate Ru (II) (1 , 4-bis (diphenylphosphino) butane) complexes with the N-donor ligands : ammonia , pyridine , 4-substituted pyridines , 267 (1998) 209–221.
- [165] J. Albert, R. Bosque, M. Crespo, G. García, J. Granell, C. López, M.V. Lovelle, R. Qadir, A. González, A. Jayaraman, E. Mila, R. Cortés, J. Quirante, C. Calvis, R. Messeguer, J. Badía, L. Baldomà, M. Cascante, Cyclopalladated primary amines: A preliminary study of antiproliferative activity through apoptosis induction, *Eur. J. Med. Chem.* 84 (2014) 530–536. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.07.046>.
- [166] F.S.C. Branco, B. V. Silva, G.F. do Rio, M.J. Santana, L.H.K. Queiroz Júnior, A.C. Pinto, N. Boechat, L.M. Lião, RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE SUBSTÂNCIAS ORGANOFLUORADAS: UM DESAFIO NO ENSINO DE ESPECTROSCOPIA, *Quim. Nova*. 38 (2015) 1237–1246.

- <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150139>.
- [167] Y.S. Varshavskii, T.G. Cherkasova, M.R. Gal'Ding, V.A. Gindin, I.S. Podkorytov, O. V. Sizova, S.N. Smirnov, A.B. Nikol'Skii, Direct ¹³C-³¹P coupling constant of coordinated triphenylphosphine as a characteristic of electron-withdrawing power of the metal center, *Russ. J. Gen. Chem.* 83 (2013) 567–569. <https://doi.org/10.1134/S1070363213030274>.
- [168] J.M. Velasques, V.C. Gervini, R.L. De Farias, A.B. De Oliveira, Crystal structure of (3 E) -5-nitro-3- (2-phenyl- hydrazinylidene) -1 H -indol-2 (3 H) -one research communications, 2 (2017) 168–172.
- [169] B.L. Gonçalves, V.C. Gervini, A.F.C. Flores, J.L.P. Junior, A.J. Bortoluzzi, R.A. Burrow, R. Duarte, R.R. da Silva, J.R. de M. Vicenti, Formation of a new copper(II) dimer through heterocyclic ligand ring opening reaction: Supramolecular features and magnetic properties, *J. Mol. Struct.* 1128 (2017) 410–418. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.09.014>.
- [170] A.P.L. De Melo, L. Bresolin, B.B. Martins, V.C. Gervini, A.B. De Oliveira, Crystal structure and Hirshfeld analysis of trans -bis(5-fluoroindoline-2,3-dione 3-oximato-κ² O₂, N₃)- trans -bis(pyridine-κ N)copper(II), *Acta Crystallogr. Sect. E Crystallogr. Commun.* 74 (2018) 428–432. <https://doi.org/10.1107/S2056989018003365>.
- [171] C.E. Housecroft, E.C. Constable, Catherine E. Housecroft Edwin C. Constable, (n.d.).
- [172] D.F. Shriver, P.W. Atkins, M.A.B. Gomes, C. Química, Química Inorgânica - Shriver e Atkins, (2003).
- [173] R.J.D. Tilley, *Cristalografia: cristais e estruturas cristalinas*, São Paulo, 2014.
- [174] S.K. Seth, D. Sarkar, A. Roy, T. Kar, Insight into supramolecular self-assembly directed by weak interactions in acetophenone derivatives: Crystal structures and Hirshfeld surface analyses, *CrystEngComm.* 13 (2011) 6728–6741. <https://doi.org/10.1039/c1ce05670k>.
- [175] T. Steiner, *The whole palette of hydrogen bonds REVIEWS The Hydrogen Bond in the Solid State*, (n.d.).
- [176] E. Arunan, G.R. Desiraju, R.A. Klein, J. Sadlej, S. Scheiner, I. Alkorta, D.C.

- Clary, R.H. Crabtree, J.J. Dannenberg, P. Hobza, H.G. Kjaergaard, A.C. Legon, B. Mennucci, D.J. Nesbitt, Defining the hydrogen bond : An account (IUPAC Technical Report)*, 83 (2011) 1619–1636. <https://doi.org/10.1351/PAC-REP-10-01-01>.
- [177] A.V. de Godoy Netto, R.C.G. Frem, A.E. Mauro, A química supramolecular de complexos pirazólicos, *Quim. Nova.* 31 (2008) 1208–1217. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000500050>.
- [178] I. Gumus, U. Solmaz, G. Binzet, E. Keskin, B. Arslan, H. Arslan, Hirshfeld surface analyses and crystal structures of supramolecular self-assembly thiourea derivatives directed by non-covalent interactions, *J. Mol. Struct.* 1157 (2018) 78–88. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.12.017>.
- [179] O. Rigaku, CrysAlis PRO, (2017).
- [180] G.M. Sheldrick, Crystal structure refinement with SHELXL, *Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.* 71 (2015) 3–8. <https://doi.org/10.1107/S2053229614024218>.
- [181] D. Shriver, M. Weller, T. Overton, J. Rourke, F. Amstrong, *Inorganic Chemistry*, 6^o edition, Jessica Fiorillo, New York, 2014.
- [182] S.B. Atla, A.A. Kelkar, V.G. Puranik, W. Bensch, R. V. Chaudhari, NC palladacycles in the Heck arylation of ethylene: Synthesis, structure and their reactivity, *J. Organomet. Chem.* 694 (2009) 683–690. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2008.11.065>.
- [183] J. Dupont, *Química Organometálica: Elementos do Bloco D*, 1st ed., Porto Alegre, 2005.
- [184] de F.A. Carey, *Química Orgânica*, 7th ed., 2011.
- [185] F. V. Rocha, R.L. Farias, M.A. Lima, V.S. Batista, N.M. Nascimento-Júnior, S.S. Garrido, A.M. Leopoldino, R.N. Goto, A.B. Oliveira, J. Beck, C. Landvogt, A.E. Mauro, A.V.G. Netto, Computational studies, design and synthesis of Pd(II)-based complexes: Allosteric inhibitors of the Human Topoisomerase-II α , *J. Inorg. Biochem.* 199 (2019) 110725. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.110725>.
- [186] J.J. McKinnon, M.A. Spackman, A.S. Mitchell, *Novel tools for visualizing and exploring intermolecular interactions in molecular crystals*, 2004.

- <https://doi.org/10.1107/S0108768104020300>.
- [187] M.T. Chen, K.M. Wu, C.T. Chen, C-H bond activation of palladium complexes that feature pendant benzamidinate ligands and their catalytic behaviours, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2012) 720–726. <https://doi.org/10.1002/ejic.201101125>.
- [188] J.-L. Niu, X.-Q. Hao, J.-F. Gong, M.-P. Song, Symmetrical and unsymmetrical pincer complexes with group 10 metals: synthesis via aryl C–H activation and some catalytic applications, *Dalt. Trans.* 40 (2011) 5135. <https://doi.org/10.1039/c0dt01439g>.
- [189] A.P. Härter Vaniel, A.E. Mauro, A.V. De Godoy Netto, E.T. De Almeida, P.C. Piquini, P. Zambiasi, D.F. Back, M. Hörner, Asymmetric and symmetric triazenido cyclopalladated complexes: Synthesis, structural analysis and DFT calculations, *J. Mol. Struct.* 1083 (2015) 311–318. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2014.11.069>.
- [190] E.J. Lenardão, R.A. Freitag, M.J. Dabdoub, A.C.F. Batista, C. da C. Silveira, “Green chemistry”: os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa, *Quim. Nova.* 26 (2003) 123–129. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000100020>.
- [191] J. Song, R. Pan, G. Li, W. Su, X. Song, J. Li, S. Liu, Synthesis and anticancer activities of thiosemicarbazones derivatives of thiochromanones and related scaffolds, *Med. Chem. Res.* 29 (2020) 630–642. <https://doi.org/10.1007/s00044-020-02503-w>.
- [192] A.A. da Silva, P.I. da S. Maia, C.D. Lopes, S. de Albuquerque, M.S. Valle, Synthesis, characterization and antichagasic evaluation of thiosemicarbazones prepared from chalcones and dibenzalacetones, *J. Mol. Struct.* 1232 (2021) 130014. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130014>.
- [193] C. Paulo, R. Pilli, S. Pinheiro, M. Vasconcellos, *Substâncias Carboniladas e seus derivados*, Bookman, Porto Alegre, 2003.
- [194] L. Sens, A.C.A. de Souza, L.A. Pacheco, A.C.O. Menegatti, M. Mori, A. Mascarello, R.J. Nunes, H. Terenzi, Synthetic thiosemicarbazones as a new class of *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine phosphatase A

- inhibitors, *Bioorg. Med. Chem.* 26 (2018) 5742–5750.
<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.10.030>.
- [195] S.K. Sinniah, K.S. Sim, S.W. Ng, K.W. Tan, Structural and cytotoxic studies of cationic thiosemicarbazones, *J. Mol. Struct.* 1137 (2017) 253–259.
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.02.031>.
- [196] P. Linciano, C.B. Moraes, L.M. Alcantara, C.H. Franco, B. Pascoalino, L.H. Freitas-Junior, S. Macedo, N. Santarem, A. Cordeiro-da-Silva, S. Gul, G. Witt, M. Kuzikov, B. Ellinger, S. Ferrari, R. Luciani, A. Quotadamo, L. Costantino, M.P. Costi, Aryl thiosemicarbazones for the treatment of trypanosomatidic infections, *Eur. J. Med. Chem.* 146 (2018) 423–434.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.01.043>.
- [197] L.C. de A. Barbosa, ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO: NA CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS, 1st ed., UFV, 2013.
- [198] B.Z. Sibuh, S. Khanna, P. Taneja, P. Sarkar, N.K. Taneja, Molecular docking, synthesis and anticancer activity of thiosemicarbazone derivatives against MCF-7 human breast cancer cell line, *Life Sci.* 273 (2021) 119305.
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119305>.
- [199] T.S. Lobana, R. Sharma, G. Bawa, S. Khanna, Bonding and structure trends of thiosemicarbazone derivatives of metals—An overview, *Coord. Chem. Rev.* 253 (2009) 977–1055.
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2008.07.004>.
- [200] A.P. Kourounakis, D. Xanthopoulos, A. Tzara, Morpholine as a privileged structure: A review on the medicinal chemistry and pharmacological activity of morpholine containing bioactive molecules, *Med. Res. Rev.* 40 (2020) 709–752. <https://doi.org/10.1002/med.21634>.
- [201] D. Fabra, A.I. Matesanz, J.M. Herrero, C. Alvarez, L.M. Balsa, I.E. Leon, A.G. Quiroga, Two Different Thiosemicarbazone Tauto-Conformers Coordinate to Palladium (II). Stability and Biological Studies of the Final Complexes, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2021 (2021) 1041–1049.
<https://doi.org/10.1002/ejic.202001066>.
- [202] T.S. Lobana, R. Sharma, G. Hundal, A. Castineiras, R.J. Butcher, The influence of substituents (R) at N1 atom of furan-2-carbaldehyde

- thiosemicarbazones $\{(C_4H_3O)HC_2N_3-N(H)-C_1(S)N_1HR\}$ on bonding, nuclearity, H-bonded networks of copper(I) complexes, *Polyhedron*. 47 (2012) 134–142. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2012.08.014>.
- [203] R. Ramachandran, G. Prakash, S. Selvamurugan, P. Viswanathamurthi, J.G. Malecki, V. Ramkumar, Efficient and versatile catalysis of N-alkylation of heterocyclic amines with alcohols and one-pot synthesis of 2-aryl substituted benzazoles with newly designed ruthenium(II) complexes of PNS thiosemicarbazones, *Dalt. Trans.* 43 (2014) 7889–7902. <https://doi.org/10.1039/C4DT00006D>.
- [204] Saswati, R. Dinda, C.S. Schmiesing, E. Sinn, Y.P. Patil, M. Nethaji, H. Stoeckli-Evans, R. Acharyya, Mixed-ligand nickel(II) thiosemicarbazone complexes: Synthesis, characterization and biological evaluation, *Polyhedron*. 50 (2013) 354–363. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2012.11.031>.
- [205] S.A. Hosseini-Yazdi, A. Mirzaahmadi, A.A. Khandar, V. Eigner, M. Dušek, F. Lotfipour, M. Mahdavi, S. Soltani, G. Dehghan, Synthesis, characterization and in vitro biological activities of new water-soluble copper(II), zinc(II), and nickel(II) complexes with sulfonato-substituted Schiff base ligand, *Inorganica Chim. Acta*. 458 (2017) 171–180. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2017.01.005>.
- [206] R.A. Dias, *Lq: ligação química*, Ist Press, Lisboa, 2009.
- [207] N.J. Farrer, P.J. Sadler, Medicinal Inorganic Chemistry: State of the Art, New Trends, and a Vision of the Future, in: *Bioinorg. Med. Chem.*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 2011: pp. 1–47. <https://doi.org/10.1002/9783527633104.ch1>.
- [208] J. Albert, R. Bosque, M. Crespo, J. Granell, C. López, R. Cortés, A. Gonzalez, J. Quirante, C. Calvis, R. Messeguer, L. Baldomà, J. Badia, M. Cascante, Pt(II) complexes with (N,N') or (C,N,E)- (E=N,S) ligands: Cytotoxic studies, effect on DNA tertiary structure and structure–activity relationships, *Bioorg. Med. Chem.* 21 (2013) 4210–4217. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2013.05.005>.
- [209] T. Diao, P. White, I. Guzei, S.S. Stahl, Characterization of DMSO

- Coordination to Palladium(II) in Solution and Insights into the Aerobic Oxidation Catalyst, Pd(DMSO) 2 (TFA) 2, *Inorg. Chem.* 51 (2012) 11898–11909. <https://doi.org/10.1021/ic301799p>.
- [210] L. Tolosa, M.T. Donato, M.J. Gómez-Lechón, General Cytotoxicity Assessment by Means of the MTT Assay, in: *Protoc. Vitro. Hepatocyte Res.*, 2015: pp. 333–348. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2074-7_26.
- [211] S.J. Beebe, M.J. Celestine, J.L. Bullock, S. Sandhaus, J.F. Arca, D.M. Cropek, T.A. Ludvig, S.R. Foster, J.S. Clark, F.A. Beckford, C.M. Tano, E.A. Tonsel-White, R.K. Gurung, C.E. Stankavich, Y.-C. Tse-Dinh, W.L. Jarrett, A.A. Holder, Synthesis, characterization, DNA binding, topoisomerase inhibition, and apoptosis induction studies of a novel cobalt(III) complex with a thiosemicarbazone ligand, *J. Inorg. Biochem.* 203 (2020) 110907. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.110907>.
- [212] E.B. Bauer, A.A. Haase, R.M. Reich, D.C. Crans, F.E. Kühn, Organometallic and coordination rhenium compounds and their potential in cancer therapy, *Coord. Chem. Rev.* 393 (2019) 79–117. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2019.04.014>.
- [213] S. Savir, J.W.K. Liew, I. Vythilingam, Y.A.L. Lim, C.H. Tan, K.S. Sim, V.S. Lee, M.J. Maah, K.W. Tan, Nickel(II) Complexes with Polyhydroxybenzaldehyde and O,N,S tridentate Thiosemicarbazone ligands: Synthesis, Cytotoxicity, Antimalarial Activity, and Molecular Docking Studies, *J. Mol. Struct.* 1242 (2021) 130815. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130815>.
- [214] B. Naderizadeh, M. Bayat, M. Ranjbaran, S. Salehzadeh, Towards computational prediction of anti-cancer activity: Making connection between IC50 values and metal–ligand interaction energies in some NHC complexes of groups 10 and 11, *J. Mol. Liq.* 341 (2021) 117310. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.117310>.
- [215] A.W. Millar, K.P. Lynch, Rethinking clinical trials for cytostatic drugs, *Nat. Rev. Cancer.* 3 (2003) 540–545. <https://doi.org/10.1038/nrc1124>.
- [216] M. Villasana, G. Ochoa, S. Aguilar, Modeling and optimization of combined cytostatic and cytotoxic cancer chemotherapy, *Artif. Intell. Med.* 50 (2010)

- 163–173. <https://doi.org/10.1016/j.artmed.2010.05.009>.
- [217] E.D. Stolyarova, A.A. Mikhailov, A.A. Ulantikov, J.A. Eremina, L.S. Klyushova, N. V. Kuratieva, V.A. Nadolinny, G.A. Kostin, Blue-to-red light triggered nitric oxide release in cytotoxic/cytostatic ruthenium nitrosyl complexes bearing biomimetic ligands, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 421 (2021) 113520. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2021.113520>.
- [218] N.F.Z. Schneider, L. Persich, S.C. Rocha, A.C.P. Ramos, V.F. Cortes, I.T. Silva, J. Munkert, R.M. Pádua, W. Kreis, A.G. Taranto, L.A. Barbosa, F.C. Braga, C.M.O. Simões, Cytotoxic and cytostatic effects of digitoxigenin monodigitoxoside (DGX) in human lung cancer cells and its link to Na,K-ATPase, *Biomed. Pharmacother.* 97 (2018) 684–696. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.128>.
- [219] P. Lim, A. Mahammed, Z. Okun, I. Saltsman, Z. Gross, H.B. Gray, J. Termini, Differential Cytostatic and Cytotoxic Action of Metalloporphyrins against Human Cancer Cells: Potential Platforms for Anticancer Drug Development, *Chem. Res. Toxicol.* 25 (2012) 400–409. <https://doi.org/10.1021/tx200452w>.
- [220] Ž.D. Bugarčić, J. Bogojeski, R. van Eldik, Kinetics, mechanism and equilibrium studies on the substitution reactions of Pd(II) in reference to Pt(II) complexes with bio-molecules, *Coord. Chem. Rev.* 292 (2015) 91–106. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2015.02.016>.
- [221] K. Karami, S. Hashemi, J. Lipkowski, F. Mardani, A.A. Momtazi-borojeni, Z.M. Lighvan, Synthesis, characterization and biological activities of two novel orthopalladated complexes: Interactions with DNA and bovine serum albumin, antitumour activity and molecular docking studies, *Appl. Organomet. Chem.* 31 (2017) e3740. <https://doi.org/10.1002/aoc.3740>.
- [222] J. Albert, R. Bosque, M. Crespo, G. García, J. Granell, C. López, M.V. Lovelle, R. Qadir, A. González, A. Jayaraman, E. Mila, R. Cortés, J. Quirante, C. Calvis, R. Messeguer, J. Badía, L. Baldomà, M. Cascante, Cyclopalladated primary amines: A preliminary study of antiproliferative activity through apoptosis induction, *Eur. J. Med. Chem.* 84 (2014) 530–536. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.07.046>.

- [223] K. Karami, N. Jamshidian, M. Zakariazadeh, Synthesis, characterization and molecular docking of new C,N -palladacycles containing pyridinium-derived ligands: DNA and BSA interaction studies and evaluation as anti-tumor agents, *Appl. Organomet. Chem.* 33 (2019) e4728. <https://doi.org/10.1002/aoc.4728>.
- [224] K. Karami, F. Parsianrad, M. Alinaghi, Z. Amirghofran, Cyclopalladated complexes containing metformin and benzylamine derivatives: Synthesis, characterization, binding interactions with DNA and BSA, in vitro cytotoxicity studies, *Inorganica Chim. Acta.* 467 (2017) 46–55. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2017.07.020>.
- [225] J. Quirante, D. Ruiz, A. Gonzalez, C. López, M. Cascante, R. Cortés, R. Messeguer, C. Calvis, L. Baldomà, A. Pascual, Y. Guérardel, B. Pradines, M. Font-Bardía, T. Calvet, C. Biot, Platinum(II) and palladium(II) complexes with (N,N') and (C,N,N')- ligands derived from pyrazole as anticancer and antimalarial agents: Synthesis, characterization and in vitro activities, *J. Inorg. Biochem.* 105 (2011) 1720–1728. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2011.09.021>.
- [226] M. Boesch, F. Baty, H. Rumpold, S. Sopper, D. Wolf, M.H. Brutsche, Fibroblasts in cancer: Defining target structures for therapeutic intervention, *Biochim. Biophys. Acta - Rev. Cancer.* 1872 (2019) 111–121. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2019.06.003>.
- [227] F.S. Ferraz, J.L. López, S.M.S.N. Lacerda, M.S. Procópio, A.F.A. Figueiredo, E.M.N. Martins, P.P.G. Guimarães, L.O. Ladeira, G.T. Kitten, F.F. Dias, R.Z. Domingues, G.M.J. Costa, Biotechnological approach to induce human fibroblast apoptosis using superparamagnetic iron oxide nanoparticles, *J. Inorg. Biochem.* 206 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2020.111017>.
- [228] F.A. Serrano, A.L. Matsuo, P.T. Monteforte, A. Bechara, S.S. Smaili, D.P. Santana, T. Rodrigues, F. V. Pereira, L.S. Silva, J. Machado, E.L. Santos, J.B. Pesquero, R.M. Martins, L.R. Travassos, A.C.F. Caires, E.G. Rodrigues, A cyclopalladated complex interacts with mitochondrial membrane thiol-groups and induces the apoptotic intrinsic pathway in

- murine and cisplatin-resistant human tumor cells, *BMC Cancer*. 11 (2011).
<https://doi.org/10.1186/1471-2407-11-296>.
- [229] R. Gigli, G.J.S. Pereira, F. Antunes, A. Bechara, D.M. Garcia, D.G. Spindola, M.G. Jasiulionis, A.C.F. Caires, S.S. Smaili, C. Bincoletto, The biphosphinic paladacycle complex induces melanoma cell death through lysosomal-mitochondrial axis modulation and impaired autophagy, *Eur. J. Med. Chem.* 107 (2016) 245–254.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.11.008>.
- [230] C.R. Oliveira, C.M.V. Barbosa, F.D. Nascimento, C.S. Lanetzki, M.B. Meneghin, F.E.G. Pereira, E.J. Paredes-Gamero, A.T. Ferreira, T. Rodrigues, M.L.S. Queiroz, A.C.F. Caires, I.L.S. Tersariol, C. Bincoletto, Pre-clinical antitumour evaluation of Biphosphinic Palladacycle Complex in human leukaemia cells, *Chem. Biol. Interact.* 177 (2009) 181–189.
<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2008.10.034>.
- [231] C.M.V. Barbosa, C.R. Oliveira, F.D. Nascimento, M.C.M. Smith, D.M. Fausto, M.A. Soufen, E. Sena, R.C. Araújo, I.L.S. Tersariol, C. Bincoletto, A.C.F. Caires, Biphosphinic palladacycle complex mediates lysosomal-membrane permeabilization and cell death in K562 leukaemia cells, *Eur. J. Pharmacol.* 542 (2006) 37–47.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.06.004>.
- [232] N.M. Al-Musayeib, R.A. Mothana, S. Al-Massarani, A. Matheeussen, P. Cos, L. Maes, Study of the in Vitro Antiplasmodial, Antileishmanial and Antitrypanosomal Activities of Medicinal Plants from Saudi Arabia, *Molecules*. 17 (2012) 11379–11390.
<https://doi.org/10.3390/molecules171011379>.
- [233] J.J. Criado, R.I.R. Macias, M. Medarde, M.J. Monte, M.A. Serrano, J.J.G. Marin, Synthesis and Characterization of the New Cytostatic Complex cis - Diammineplatinum(II)–Chlorocholyglycinate, *Bioconjug. Chem.* 8 (1997) 453–458. <https://doi.org/10.1021/bc970061v>.
- [234] K.I. Block, A.C. Koch, M.N. Mead, P.K. Tothy, R.A. Newman, C. Gyllenhaal, Impact of antioxidant supplementation on chemotherapeutic efficacy: A systematic review of the evidence from randomized controlled trials,

- Cancer Treat. Rev. 33 (2007) 407–418.
<https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2007.01.005>.
- [235] A. Scalbert, C. Manach, C. Morand, C. Rémésy, L. Jiménez, Dietary polyphenols and the prevention of diseases, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 45 (2005) 287–306. <https://doi.org/10.1080/1040869059096>.
- [236] A. Mattarei, N. Sassi, C. Durante, L. Biasutto, G. Sandonà, E. Marotta, S. Garbisa, A. Gennaro, C. Paradisi, M. Zoratti, Redox Properties and Cytotoxicity of Synthetic Isomeric Mitochondriotropic Derivatives of the Natural Polyphenol Quercetin, *European J. Org. Chem.* 2011 (2011) 5577–5586. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201100573>.
- [237] M. Khalaj, A. Olyaei, M. Sadeghpour, A. Lalegani, J. Lipkowski, A.J. Lough, Platinum(II) complex with 4-nitro- N -(pyridin-2-ylmethylidene)aniline: synthesis, characterization, crystal structure and antioxidant activity, *Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.* 76 (2020) 1005–1009. <https://doi.org/10.1107/S205322962001308X>.
- [238] T.A. Antonenko, D.B. Shpakovsky, D.A. Berseneva, Y.A. Gracheva, L.G. Dubova, P.N. Shevtsov, O.M. Redkozubova, E.F. Shevtsova, V.A. Tafeenko, L.A. Aslanov, E.R. Milaeva, Cytotoxic activity of organotin carboxylates based on synthetic phenolic antioxidants and polycyclic bile acids, *J. Organomet. Chem.* 909 (2020) 121089. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2019.121089>.
- [239] F. Qi, Q. Qi, J. Song, J. Huang, Synthesis, Crystal Structure, Biological Evaluation and in Silico Studies on Novel (E)-1-(Substituted Benzylidene)-4-(3-isopropylphenyl)thiosemicarbazone Derivatives, *Chem. Biodivers.* 18 (2021). <https://doi.org/10.1002/cbdv.202000804>.
- [240] W. Jamil, S. Solangi, M. Ali, K.M. Khan, M. Taha, M.Y. Khuhawar, Syntheses, characterization, in vitro antiglycation and DPPH radical scavenging activities of isatin salicylhydrazidehydrazone and its Mn (II), Co (II), Ni (II), Cu (II), and Zn (II) metal complexes, *Arab. J. Chem.* 12 (2019) 2262–2269. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.02.015>.
- [241] V.Y. Tyurin, A.A. Moiseeva, D.B. Shpakovsky, E.R. Milaeva, The electrochemical approach to antioxidant activity assay of metal complexes

- with dipicolylamine ligand, containing 2,6-di-tert-butylphenol groups, based on electrochemical DPPH-test, *J. Electroanal. Chem.* 756 (2015) 212–221. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2015.07.024>.
- [242] J. Panda, L. Adhikari, A. Pal, S.S. Rout, S. Pattanaik, P. Pradhan, Antioxidant and anti-microbial activity study of synthesized copper, nickel and zinc metals schiff base derivative of salicylaldehyde, *Rasayan J. Chem.* 13 (2020) 556–561. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.31788/RJC.2020.1315477>.
- [243] R. Ravichandran, M. Rajendran, D. Devapiriam, Antioxidant study of quercetin and their metal complex and determination of stability constant by spectrophotometry method, *Food Chem.* 146 (2014) 472–478. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.080>.
- [244] O.A. El-Gammal, G.M. Abu El-Reash, S.E. Ghazy, A.H. Radwan, Synthesis, characterization, molecular modeling and antioxidant activity of (1E,5E)-1,5-bis(1-(pyridin-2-yl)ethylidene)carbonohydrazide (H2APC) and its zinc(II), cadmium(II) and mercury(II) complexes, *J. Mol. Struct.* 1020 (2012) 6–15. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2012.04.029>.
- [245] Z. Wu, J. Ming, R. Gao, Y. Wang, Q. Liang, H. Yu, G. Zhao, Characterization and antioxidant activity of the complex of tea polyphenols and oat β -glucan, *J. Agric. Food Chem.* 59 (2011) 10737–10746. <https://doi.org/10.1021/jf202722w>.
- [246] G. Kalaiarasi, R. Jain, H. Puschman, S. Poorna Chandrika, K. Preethi, R. Prabhakaran, New binuclear Ni(ii) metallates containing ONS chelators: synthesis, characterisation, DNA binding, DNA cleavage, protein binding, antioxidant activity, antimicrobial and in vitro cytotoxicity, *New J. Chem.* 41 (2017) 2543–2560. <https://doi.org/10.1039/c6nj03516g>.
- [247] G. Munikumari, R. Konakanchi, V.B. Nishtala, G. Ramesh, L.R. Kotha, K.B. Chandrasekhar, C. Ramachandraiah, Palladium(II) complexes of 5-substituted isatin thiosemicarbazones: Synthesis, spectroscopic characterization, biological evaluation and in silico docking studies, *Synth. Commun.* 49 (2019) 146–158. <https://doi.org/10.1080/00397911.2018.1546400>.

- [248] Z. Bakherad, M. Safavi, A. Fassihi, H. Sadeghi-Aliabadi, M. Bakherad, H. Rastegar, J.B. Ghasemi, S. Sepehri, L. Saghaie, M. Mahdavi, Anti-cancer, anti-oxidant and molecular docking studies of thiosemicarbazone indole-based derivatives, *Res. Chem. Intermed.* 45 (2019) 2827–2854. <https://doi.org/10.1007/s11164-019-03765-9>.
- [249] A. Sykula, A. Kowalska-Baron, A. Dzeikala, A. Bodzioch, E. Lodyga-Chruscinska, An experimental and DFT study on free radical scavenging activity of hesperetin Schiff bases, *Chem. Phys.* 517 (2019) 91–103. <https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2018.09.033>.
- [250] R. Masnikosa, M.M. Milutinović, I. Crnolatac, A. Tot, S. Veličković, Ž. Bojić-Trbojević, A. Rilak-Simović, Anti-adhesive action of novel ruthenium(II) chlorophenyl terpyridine complexes with a high affinity for double-stranded DNA: in vitro and in silico, *J. Inorg. Biochem.* 208 (2020) 111090. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2020.111090>.
- [251] M. Khosravifarsani, S. Ait-Mohand, B. Paquette, L. Sanche, B. Guérin, High Cytotoxic Effect by Combining Copper-64 with a NOTA–Terpyridine Platinum Conjugate, *J. Med. Chem.* 64 (2021) 6765–6776. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c00039>.
- [252] Q. Zhou, C. You, C. Zheng, Y. Gu, H. Gu, R. Zhang, H. Wu, B. Sun, 3-Nitroacridine derivatives arrest cell cycle at G0/G1 phase and induce apoptosis in human breast cancer cells may act as DNA-target anticancer agents, *Life Sci.* 206 (2018) 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.05.010>.
- [253] J.B. Chaires, Drug–DNA interactions, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 8 (1998) 314–320. [https://doi.org/10.1016/S0959-440X\(98\)80064-X](https://doi.org/10.1016/S0959-440X(98)80064-X).
- [254] C.V. Barra, A.V.G. Netto, Antitumour Complexes and DNA Interactions and their Tools of Analysis: an Approach to Metalointercalators, *Rev. Virtual Química.* 7 (2015) 1998–2016. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150118>.
- [255] V. Brabec, O. Hrabina, J. Kasparkova, Cytotoxic platinum coordination compounds. DNA binding agents, *Coord. Chem. Rev.* 351 (2017) 2–31. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2017.04.013>.
- [256] M. Zaki, F. Arjmand, S. Tabassum, Current and future potential of metallo

- drugs: Revisiting DNA-binding of metal containing molecules and their diverse mechanism of action, *Inorganica Chim. Acta.* 444 (2016) 1–22. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2016.01.006>.
- [257] A.C. Komor, J.K. Barton, The path for metal complexes to a DNA target, *Chem. Commun.* 49 (2013) 3617–3630. <https://doi.org/10.1039/c3cc00177f>.
- [258] S.M. Nelson, L.R. Ferguson, W.A. Denny, Non-covalent ligand/DNA interactions: Minor groove binding agents, *Mutat. Res. - Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* 623 (2007) 24–40. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2007.03.012>.
- [259] K. Karami, S. Hashemi, J. Lipkowski, F. Mardani, A.A. Momtazi-borojeni, Z.M. Lighvan, Synthesis, characterization and biological activities of two novel orthopalladated complexes: Interactions with DNA and bovine serum albumin, antitumour activity and molecular docking studies, *Appl. Organomet. Chem.* 31 (2017) 1–16. <https://doi.org/10.1002/aoc.3740>.
- [260] M. Sirajuddin, S. Ali, A. Badshah, Drug-DNA interactions and their study by UV-Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 124 (2013) 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2013.03.013>.
- [261] J.H. Shi, T.T. Liu, M. Jiang, J. Chen, Q. Wang, Characterization of interaction of calf thymus DNA with gefitinib: Spectroscopic methods and molecular docking, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 147 (2015) 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2015.03.005>.
- [262] F. Zsila, Apparent circular dichroism signature of stirring-oriented DNA and drug-DNA complexes, *Int. J. Biol. Macromol.* 72 (2015) 1034–1040. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.10.009>.
- [263] S.U. Rehman, T. Sarwar, M.A. Husain, H.M. Ishqi, M. Tabish, Studying non-covalent drug–DNA interactions, *Arch. Biochem. Biophys.* 576 (2015) 49–60. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2015.03.024>.
- [264] R.F. Pasternack, Circular dichroism and the interactions of water soluble porphyrins with DNA?A minireview, *Chirality.* 15 (2003) 329–332. <https://doi.org/10.1002/chir.10206>.

- [265] V.C. Da Silveira, H. Benezra, J.S. Luz, R.C. Georg, C.C. Oliveira, A.M.D.C. Ferreira, Binding of oxindole-Schiff base copper(II) complexes to DNA and its modulation by the ligand, *J. Inorg. Biochem.* 105 (2011) 1692–1703. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2011.09.016>.
- [266] M. Sirajuddin, S. Ali, A. Badshah, Drug–DNA interactions and their study by UV–Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 124 (2013) 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2013.03.013>.
- [267] C.V. Barra, A.V.G. Netto, Antitumour Complexes and DNA Interactions and their Tools of Analysis: an Approach to Metalointercalators, *Rev. Virtual Química.* 7 (2015) 1998–2016. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150118>.
- [268] S. Richter, S. Singh, D. Draca, A. Kate, A. Kumbhar, A.S. Kumbhar, D. Maksimovic-Ivanic, S. Mijatovic, P. Lönnecke, E. Hey-Hawkins, Antiproliferative activity of ruthenium(II) arene complexes with mono- and bidentate pyridine-based ligands, *Dalt. Trans.* 45 (2016) 13114–13125. <https://doi.org/10.1039/c6dt01782g>.
- [269] B.M. Zeglis, V.C. Pierre, J.K. Barton, Metallo-intercalators and metallo-insertors, *Chem. Commun.* 7345 (2007) 4565–4579. <https://doi.org/10.1039/b710949k>.
- [270] A. Shah, E. Nosheen, S. Munir, A. Badshah, R. Qureshi, Z.U. Rehman, N. Muhammad, H. Hussain, Characterization and DNA binding studies of unexplored imidazolidines by electronic absorption spectroscopy and cyclic voltammetry, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 120 (2013) 90–97. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2012.12.015>.
- [271] M. Alinaghi, K. Karami, A. Shahpiri, A.K. Nasab, A.A. Momtazi-Borojeni, E. Abdollahi, J. Lipkowski, A Pd(II) complex derived from pyridine-2-carbaldehyde oxime ligand: Synthesis, characterization, DNA and BSA interaction studies and in vitro anticancer activity, *J. Mol. Struct.* 1219 (2020) 128479. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128479>.
- [272] J.B. Lepecq, C. Paoletti, A fluorescent complex between ethidium bromide and nucleic acids. Physical-Chemical characterization, *J. Mol. Biol.* 27

- (1967) 87–106. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(67\)90353-1](https://doi.org/10.1016/0022-2836(67)90353-1).
- [273] N. Shahabadi, N.H. Moghadam, Determining the mode of interaction of calf thymus DNA with the drug sumatriptan using voltammetric and spectroscopic techniques, *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 99 (2012) 18–22. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.09.022>.
- [274] S. Kashanian, S. Javanmardi, A. Chitsazan, K. Omidfar, M. Paknejad, DNA-binding studies of fluoxetine antidepressant, *DNA Cell Biol.* 31 (2012) 1349–1355. <https://doi.org/10.1089/dna.2012.1657>.
- [275] S. Maiti, N.K. Chaudhury, S. Chowdhury, Hoechst 33258 binds to G-quadruplex in the promoter region of human c-myc, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 310 (2003) 505–512. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2003.09.052>.
- [276] G.J. Chen, X. Qiao, J.L. Tian, J.Y. Xu, W. Gu, X. Liu, S.P. Yan, Synthesis, DNA binding, photo-induced DNA cleavage and cytotoxicity studies of europium(III) complexes, *Dalt. Trans.* 39 (2010) 10637–10643. <https://doi.org/10.1039/c0dt00718h>.
- [277] A.H. Hegde, S.N. Prashanth, J. Seetharamappa, Interaction of antioxidant flavonoids with calf thymus DNA analyzed by spectroscopic and electrochemical methods, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 63 (2012) 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2012.01.034>.
- [278] Y. Guan, R. Shi, X. Li, M. Zhao, Y. Li, Multiple binding modes for dicationic hoechst 33258 to DNA, *J. Phys. Chem. B.* 111 (2007) 7336–7344. <https://doi.org/10.1021/jp066344e>.
- [279] F. V. Rocha, C. V. Barra, S.S. Garrido, F.A. Manente, I.Z. Carlos, J. Ellena, A.S.C. Fuentes, A. Gautier, L. Morel, A.E. Mauro, A.V.G. Netto, Cationic Pd(II) complexes acting as topoisomerase II inhibitors: Synthesis, characterization, DNA interaction and cytotoxicity, *J. Inorg. Biochem.* 159 (2016) 165–168. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2016.02.039>.
- [280] T.R. de Moura, R.D. Zanetti, D.E.S. Silva, R.L. de Farias, A.E. Mauro, J.C.M. Pereira, A.A. de Souza, F. da Silva Siqueira, W.A. de Souza Júdice, M.A. Lima, F.V. Rocha, V.M. Deflon, A. Vieira de Godoy Netto, Palladium(II) complexes bearing 1-iminothiolate-3,5-dimethylpyrazoles:

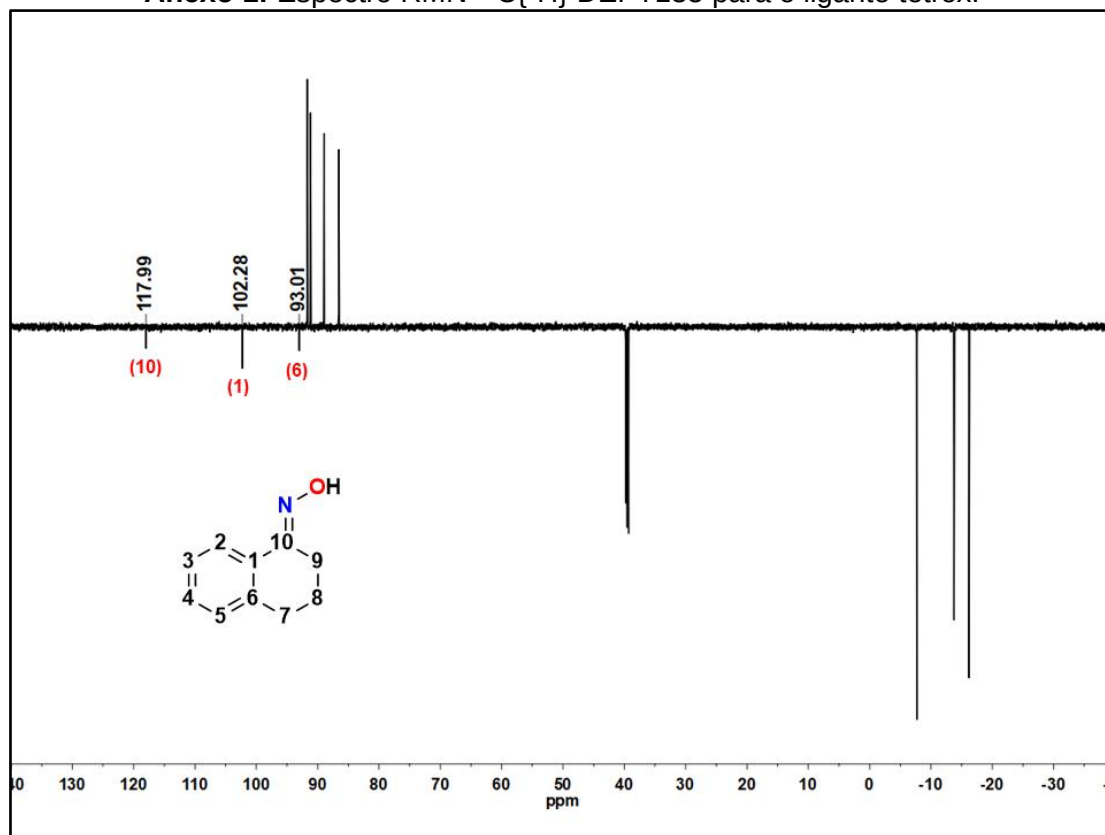
- synthesis, cytotoxicity, DNA binding and enzymatic inhibition studies, *New J. Chem.* 44 (2020) 19891–19901. <https://doi.org/10.1039/D0NJ02825H>.
- [281] V.W.R. Moraes, A.C.F. Caires, E.J. Paredes-Gamero, T. Rodrigues, Organopalladium compound 7b targets mitochondrial thiols and induces caspase-dependent apoptosis in human myeloid leukemia cells, *Cell Death Dis.* 4 (2013) e658–e658. <https://doi.org/10.1038/cddis.2013.190>.
- [282] S.W. Law, H.B. Brewer, Nucleotide sequence and the encoded amino acids of human apolipoprotein A-I in mRNA, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 81 (1984) 66–70. <https://doi.org/10.1073/pnas.81.1.66>.
- [283] L. Ricciardi, R. Guzzi, B. Rizzuti, A. Ionescu, I. Aiello, M. Ghedini, M. La Deda, Anionic versus neutral Pt(II) complexes: The relevance of the charge for human serum albumin binding, *J. Inorg. Biochem.* 206 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2020.111024>.
- [284] F. Kratz, A. Wunder, B. Elsadek, Serum Proteins as Drug Carriers of Anticancer Agents, *Drug Deliv. Oncol. From Basic Res. to Cancer Ther.* 2 (2011) 747–803. <https://doi.org/10.1002/9783527634057.ch24>.
- [285] Y.J. Hu, O.Y. Yu, C.M. Dai, Y. Liu, X.H. Xiao, Site-selective binding of human serum albumin by palmatine: Spectroscopic approach, *Biomacromolecules.* 11 (2010) 106–112. <https://doi.org/10.1021/bm900961e>.
- [286] T.P. Jr., All About Albumin, Elsevier, 1995. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-552110-9.X5000-4>.
- [287] F. Zsila, Subdomain IB is the third major drug binding region of human serum albumin: Toward the three-sites model, *Mol. Pharm.* 10 (2013) 1668–1682. <https://doi.org/10.1021/mp400027q>.
- [288] F. Yang, Y. Zhang, H. Liang, Interactive association of drugs binding to human serum albumin, *Int. J. Mol. Sci.* 15 (2014) 3580–3595. <https://doi.org/10.3390/ijms15033580>.
- [289] F. Samari, B. Hemmateenejad, M. Shamsipur, M. Rashidi, H. Samouei, Affinity of two novel five-coordinated anticancer Pt(II) complexes to human and bovine serum albumins: A spectroscopic approach, *Inorg. Chem.* 51 (2012) 3454–3464. <https://doi.org/10.1021/ic202141g>.

- [290] L. Yang, L. He, J. Zhang, S. An, L. Zhang, Exploring the copper(II)-aminotriazole complex-binding sites of human serum albumin, *J. Biol. Inorg. Chem.* 20 (2015) 1059–1068. <https://doi.org/10.1007/s00775-015-1287-x>.
- [291] R.S. De Oliveira, E.F. Boffo, F.C.C. Reis, S. Nikolaou, K.F. Andriani, G.F. Caramori, F.G. Doro, A ruthenium polypyridyl complex with the antihypertensive drug valsartan: Synthesis, theoretical calculations and interaction studies with human serum albumin, *Polyhedron*. 114 (2016) 232–241. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2015.12.029>.
- [292] J.R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence spectroscopy*, 3rd ed., New York, 2006.
- [293] T.J. Peters, *All about albumin: Biochemistry, genetics and medicinal applications*, San Diego, 1996.
- [294] P.D. Ross, S. Subramanian, Thermodynamics of macromolecular association reactions: Analysis of forces contributing to stabilization, *Biophys. J.* 32 (1980) 79–81. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(80\)84918-6](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(80)84918-6).
- [295] J. Ghuman, P.A. Zunszain, I. Petitpas, A.A. Bhattacharya, M. Otagiri, S. Curry, Structural basis of the drug-binding specificity of human serum albumin, *J. Mol. Biol.* 353 (2005) 38–52. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2005.07.075>.
- [296] A. Port, M. Bordas, R. Enrech, R. Pascual, M. Rosés, C. Ràfols, X. Subirats, E. Bosch, Critical comparison of shake-flask, potentiometric and chromatographic methods for lipophilicity evaluation ($\log P_{o/w}$) of neutral, acidic, basic, amphoteric, and zwitterionic drugs, *Eur. J. Pharm. Sci.* 122 (2018) 331–340. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.07.010>.
- [297] J.A. Arnott, S.L. Planey, The influence of lipophilicity in drug discovery and design, *Expert Opin. Drug Discov.* 7 (2012) 863–875. <https://doi.org/10.1517/17460441.2012.714363>.
- [298] A. Katzung, B; Masters, S.; Trevor, *Farmacologia Básica e Clínica*, 13th ed., Porto Alegre, 2017. <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#!/books/9788580555974/>.

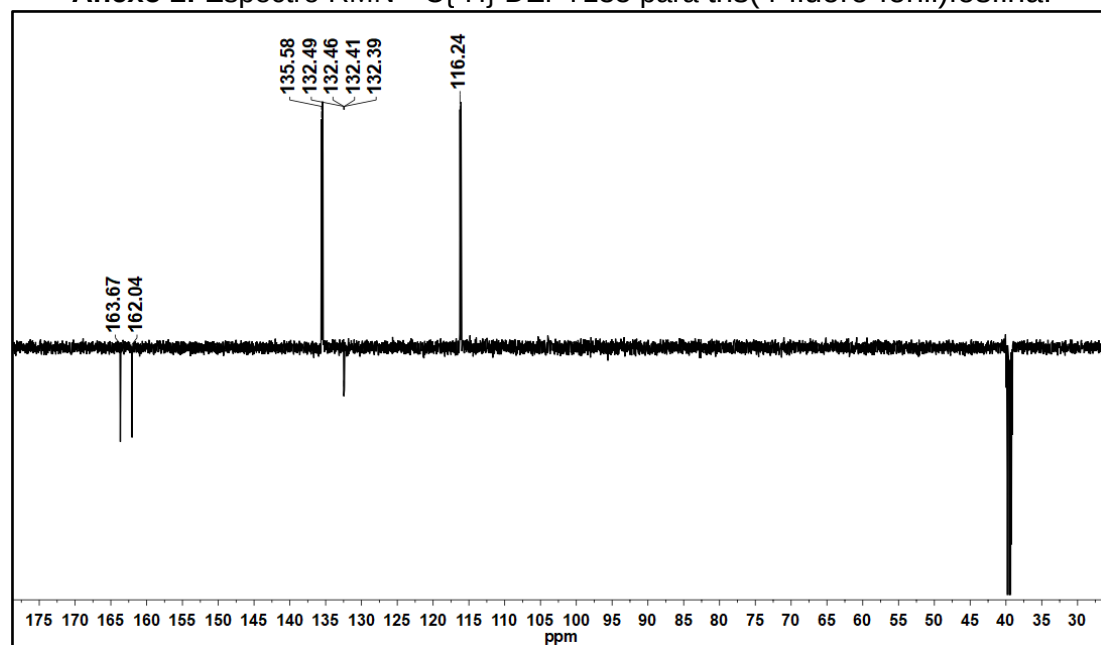
- [299] C.A.M. Barreiro, E. J.; Fraga, Química Medicinal, 3rd edição, Grupo A, 2015. <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582711187/>.
- [300] S.K. Bhal, Lipophilicity Descriptors: Understanding When to Use LogP & LogD, (2009) 4. www.acdlabs.com.
- [301] OECD/OCDE, Test No. 107: Partition Coefficient (n-octanol/water): Shake Flask Method, Guidance. 107 (1995) 1–4. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-107-partition-coefficient-n-octanol-water-shake-flask-method_9789264069626-en.
- [302] V.T. Yilmaz, C. Icel, O.R. Turgut, M. Aygun, M. Erkisa, M.H. Turkdemir, E. Ulukaya, Synthesis, structures and anticancer potentials of platinum(II) saccharinate complexes of tertiary phosphines with phenyl and cyclohexyl groups targeting mitochondria and DNA, Eur. J. Med. Chem. 155 (2018) 609–622. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.06.035>.
- [303] Z. Bakherad, M. Safavi, A. Fassihi, H. Sadeghi-Aliabadi, M. Bakherad, H. Rastegar, M. Saeedi, J.B. Ghasemi, L. Saghaie, M. Mahdavi, Design and Synthesis of Novel Cytotoxic Indole-Thiosemicarbazone Derivatives: Biological Evaluation and Docking Study, Chem. Biodivers. 16 (2019). <https://doi.org/10.1002/cbdv.201800470>.
- [304] S.N. Mbugua, N.R.S. Sibuyi, L.W. Njenga, R.A. Odhiambo, S.O. Wandiga, M. Meyer, R.A. Lalancette, M.O. Onani, New Palladium(II) and Platinum(II) Complexes Based on Pyrrole Schiff Bases: Synthesis, Characterization, X-ray Structure, and Anticancer Activity, ACS Omega. 5 (2020) 14942–14954. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00360>.
- [305] SK. Bhal, LogP—Making Sense of the Value, Adv. Chem. Dev. (2008). https://www.acdlabs.com/download/app/physchem/making_sense.pdf.

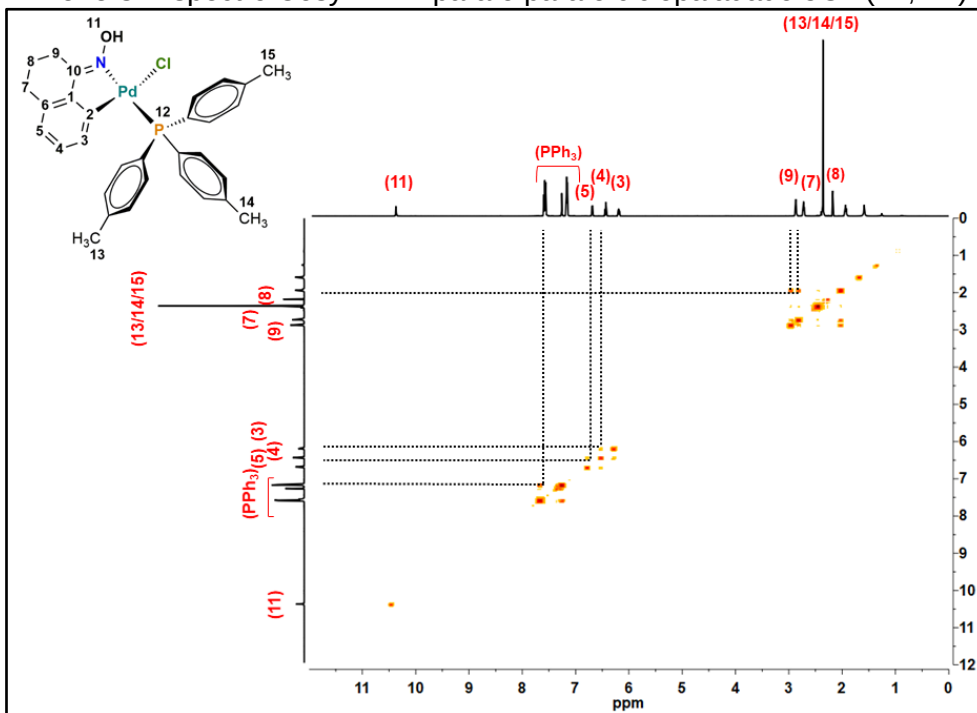
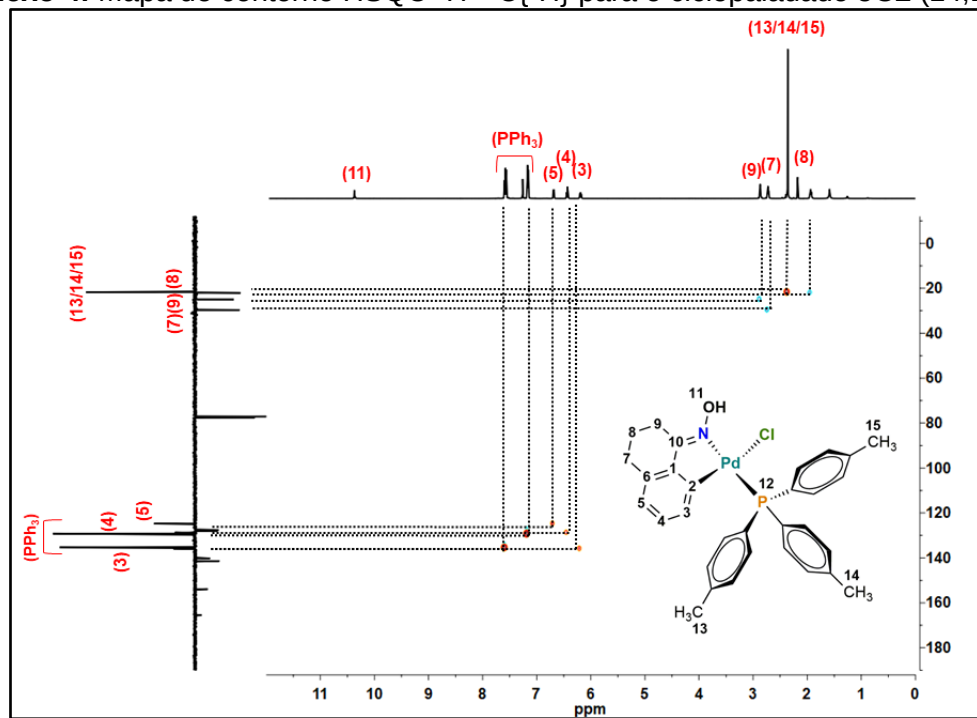
9. Anexos

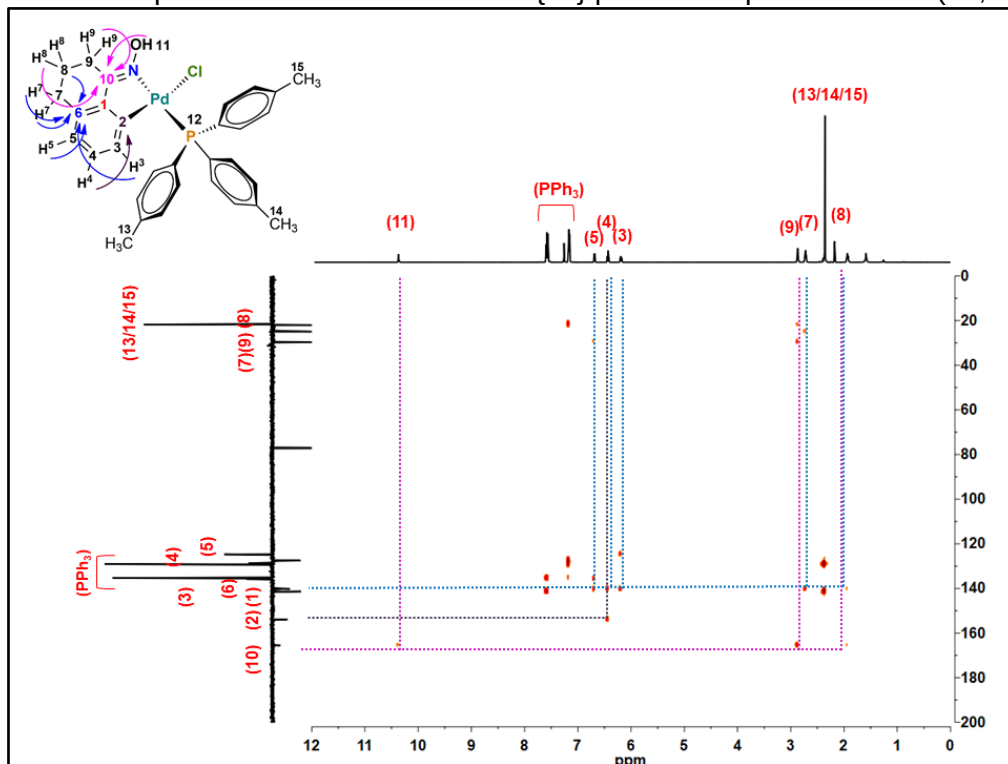
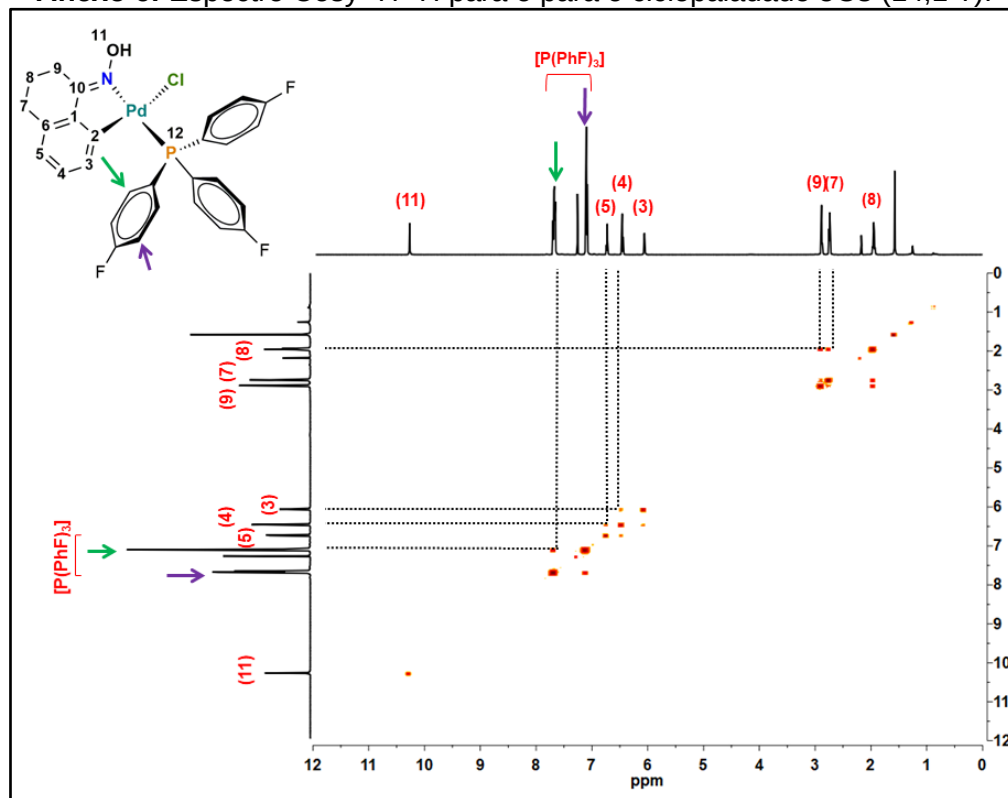
Anexo 1: Espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DEPT135 para o ligante tetrox.

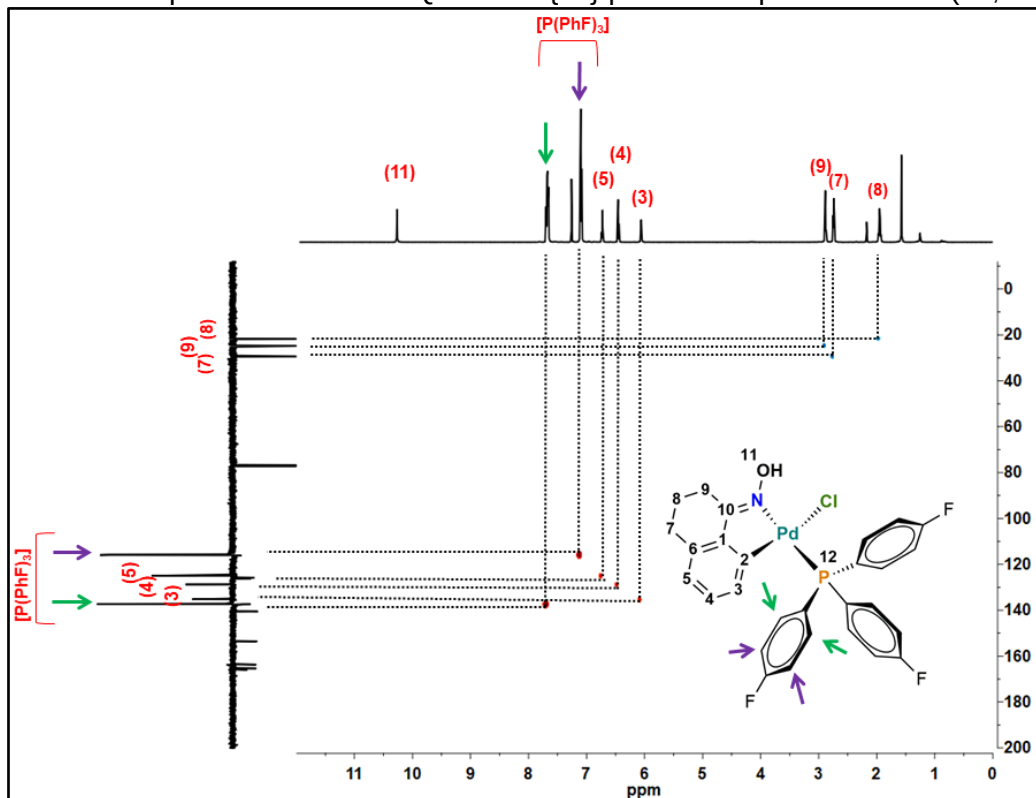
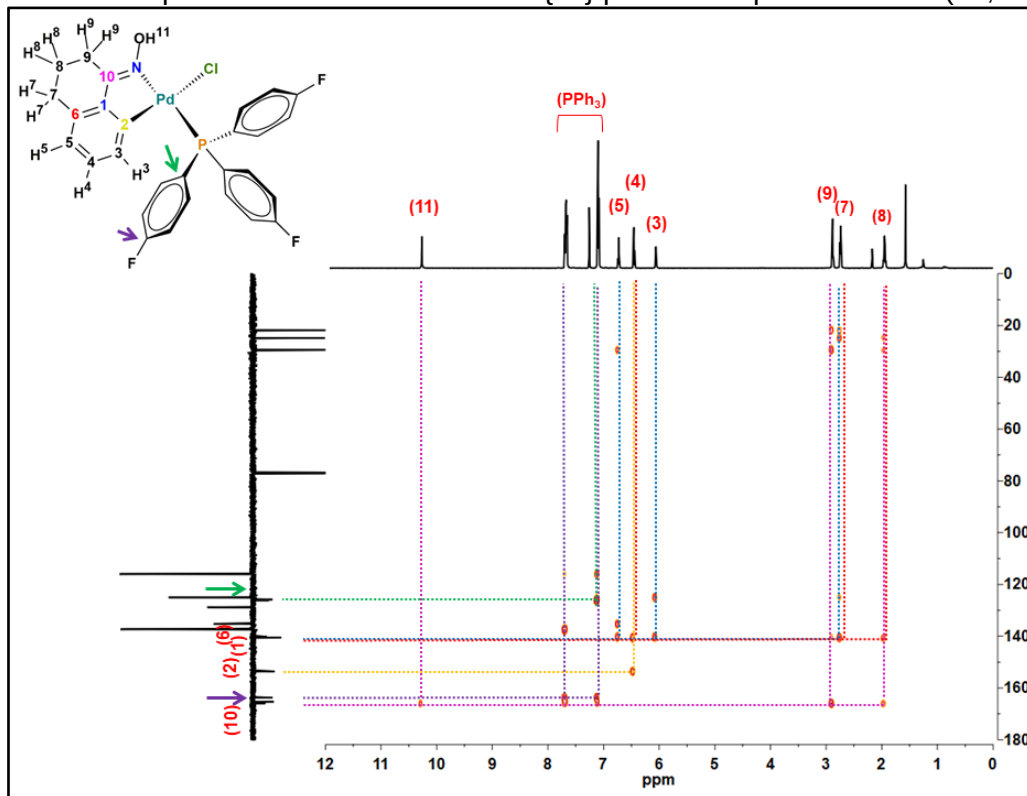


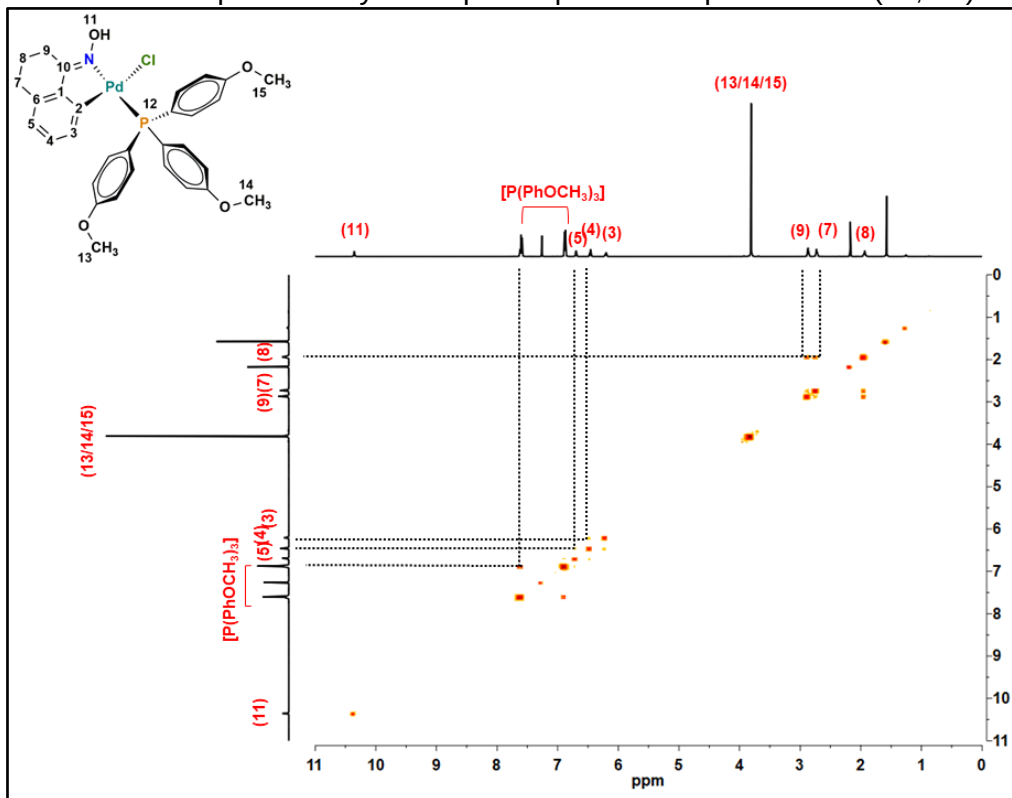
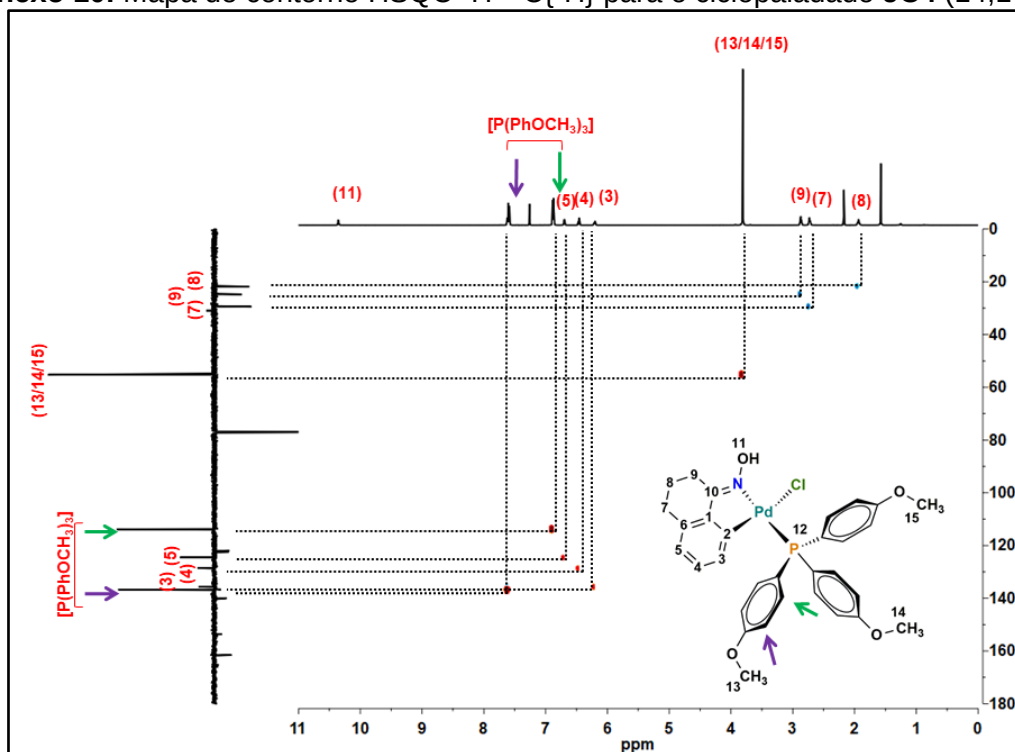
Anexo 2: Espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DEPT135 para tris(4-fluoro-fenil)fosfina.

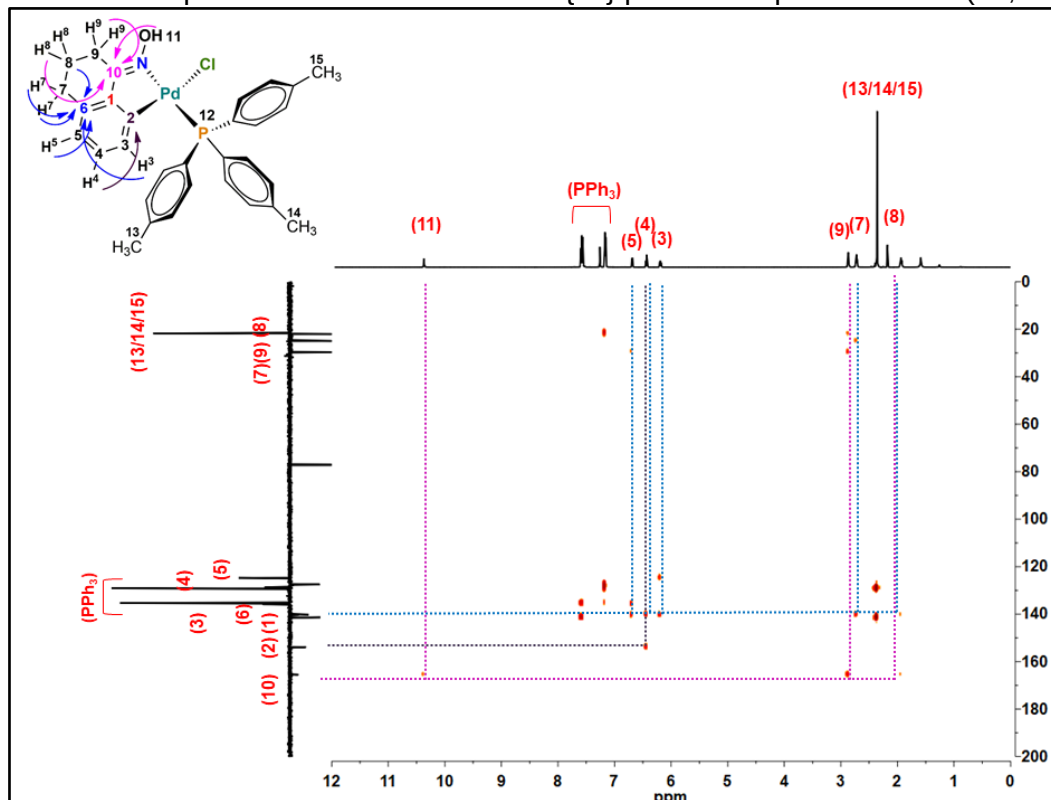
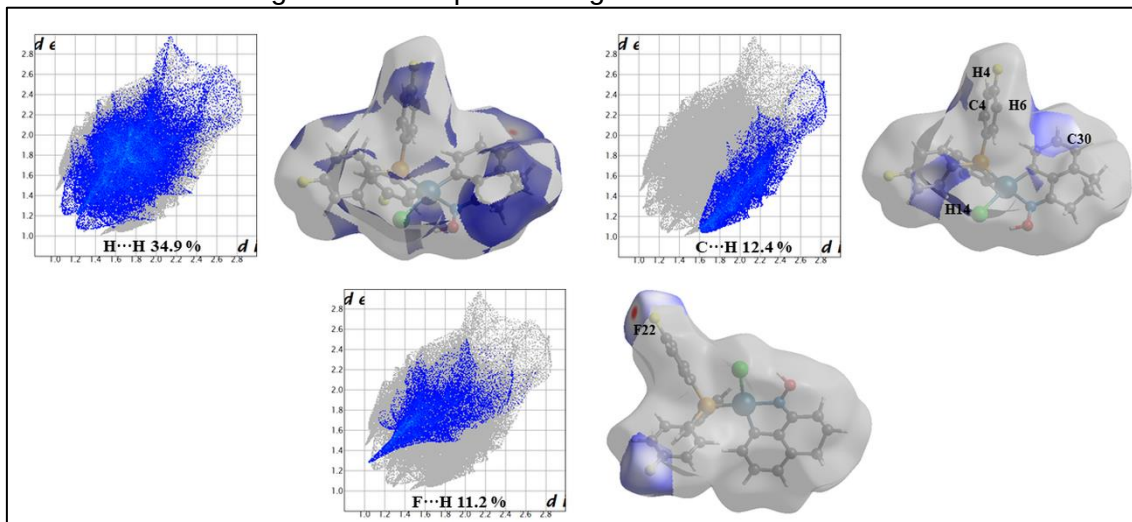


Anexo 3: Espectro Cosy ^1H - ^1H para o para o ciclopaladado **JC2** (14,1 T).**Anexo 4:** Mapa de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o ciclopaladado **JC2** (14,1 T).

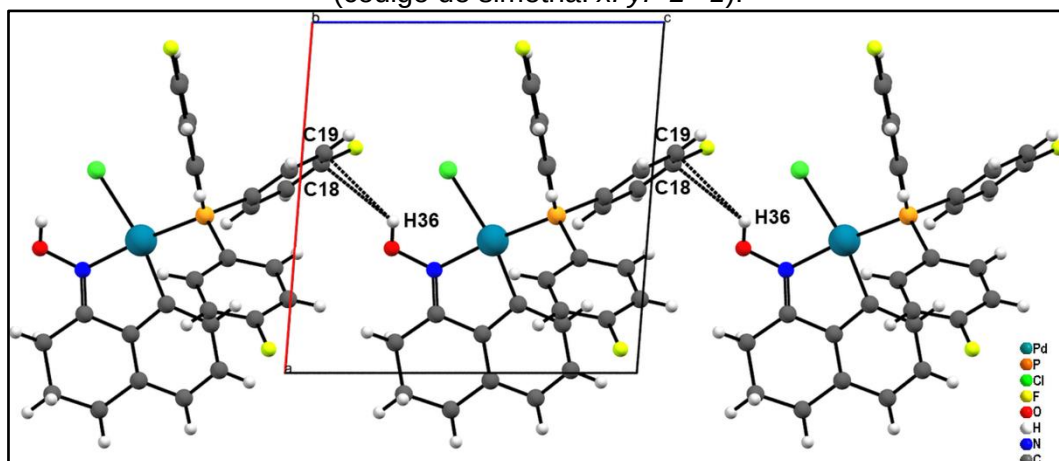
Anexo 5: Mapa de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o ciclopaladado **JC2** (14,1 T).**Anexo 6:** Espectro Cosy ^1H - ^1H para o para o ciclopaladado **JC3** (14,1 T).

Anexo 7: Mapa de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o ciclopaladado **JC3** (14,1 T).**Anexo 8:** Mapa de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o ciclopaladado **JC3** (14,1 T).

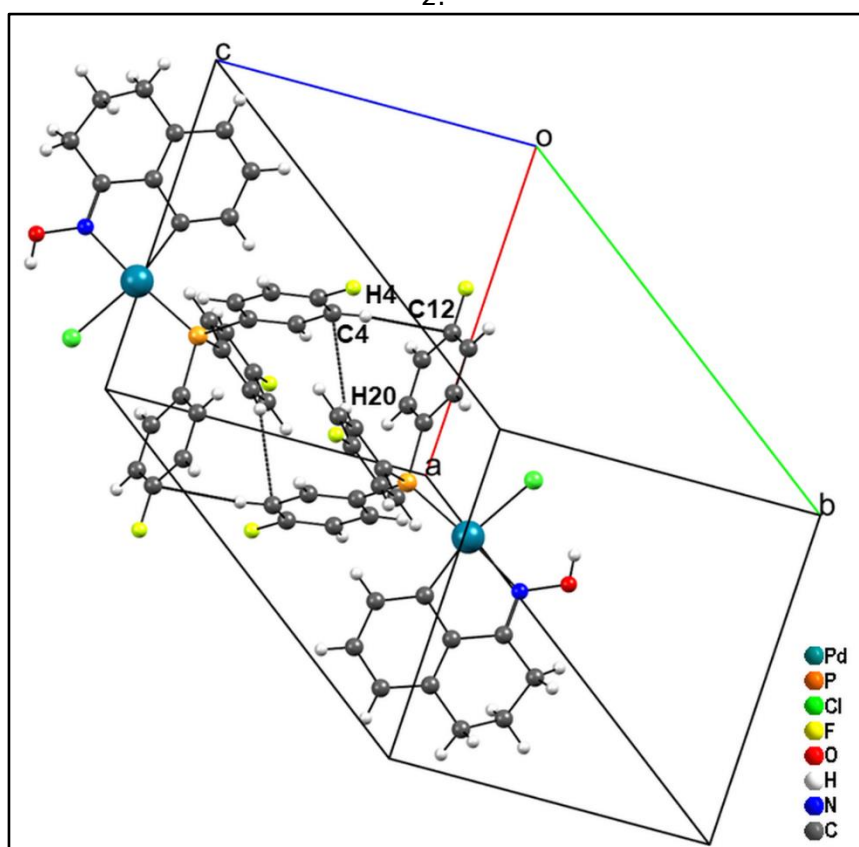
Anexo 9: Espectro Cosy ^1H - ^1H para o para o ciclopadoado **JC4** (14,1 T).**Anexo 10:** Mapa de contorno HSQC ^1H - ^{13}C [^1H] para o ciclopadoado **JC4** (14,1 T)).

Anexo 11: Mapa de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o ciclopaladado **JC4** (14,1 T).**Anexo 12:** Regiões selecionadas da Superfície de Hirshfeld para o composto **JC3** e os gráficos de impressão digital 2D relacionados.

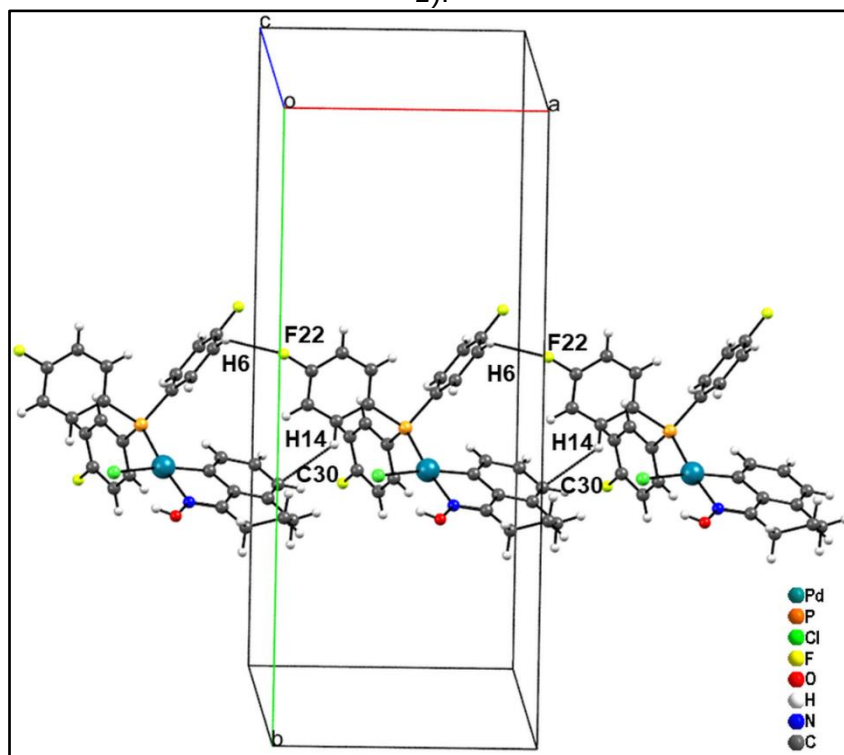
Anexo 13: Vista parcial da estrutura cristalina do monômero **JC3** na direção [010], formando uma cadeia de ligações de hidrogênio 1D ao longo do eixo cristalográfico *c* (código de simetria: *x. y. -1 +z*).



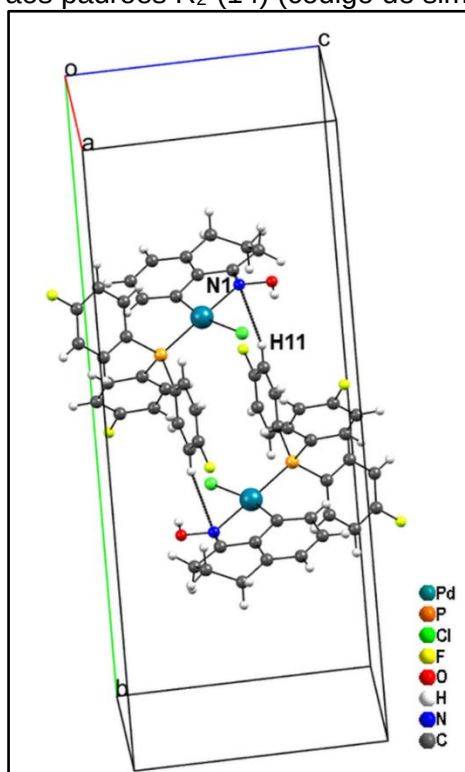
Anexo 14: Vista parcial da estrutura cristalina do composto JC3 mostrando as ligações de hidrogênio ao longo do eixo cristalográfico *b*, formando dímeros simetricamente relacionados aos padrões $R_2^2(8)$ e $R_2^2(14)$ (códigos de simetria $-1+x. y. z$).



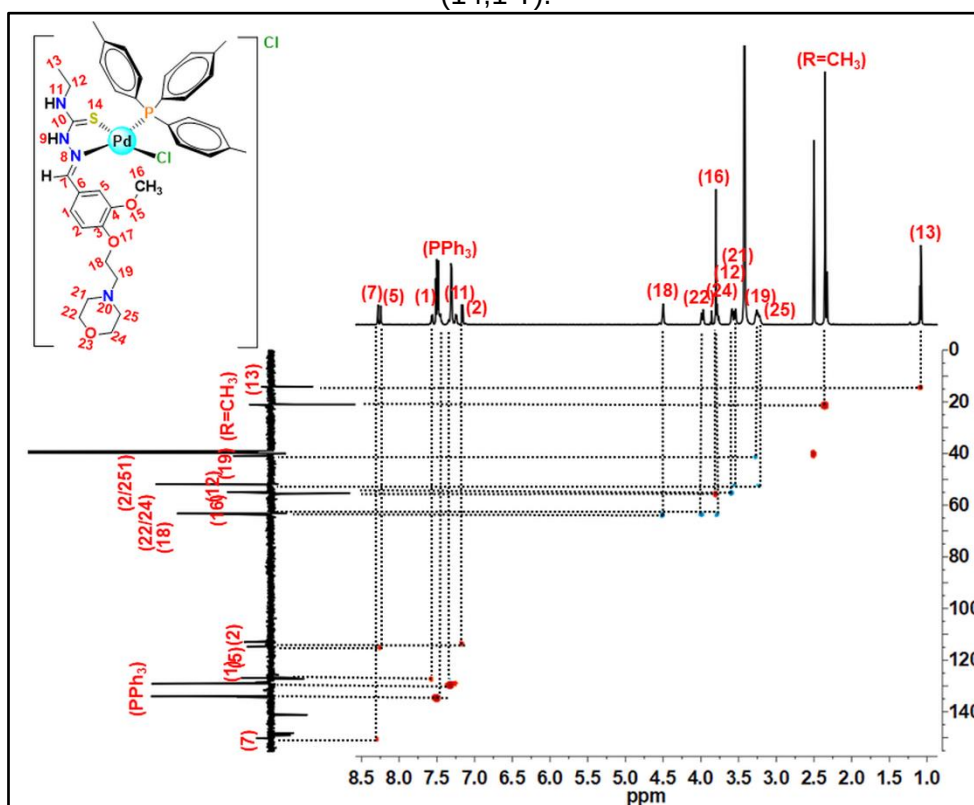
Anexo 15: Vista parcial da estrutura cristalina do composto **JC3** mostrando as ligações de hidrogênio ao longo do eixo cristalográfico *a* (código de simetria: $-1 +x, y, z$).



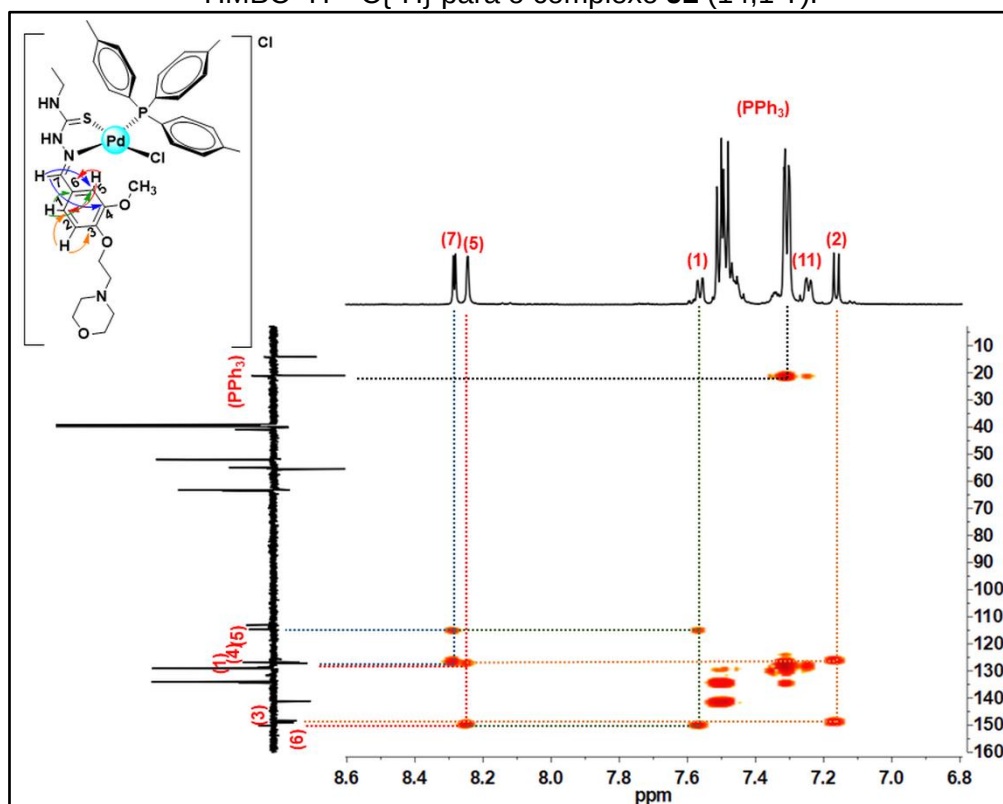
Anexo 16: Vista parcial da estrutura cristalina do composto **JC3** apresentando as ligações de hidrogênio ao longo do eixo *b* formando dímeros simetricamente relacionados aos padrões $R_2^2(14)$ (código de simetria $1-x, 1-z$).



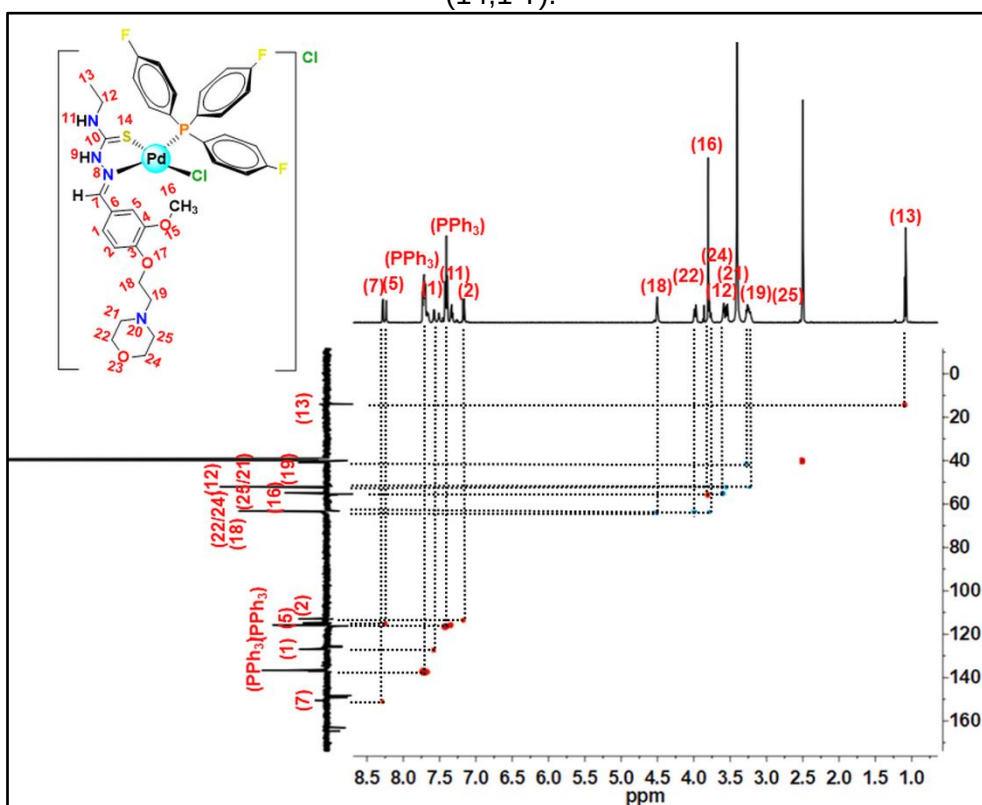
Anexo 17: Mapa de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o complexo para o complexo **J2** (14,1 T).



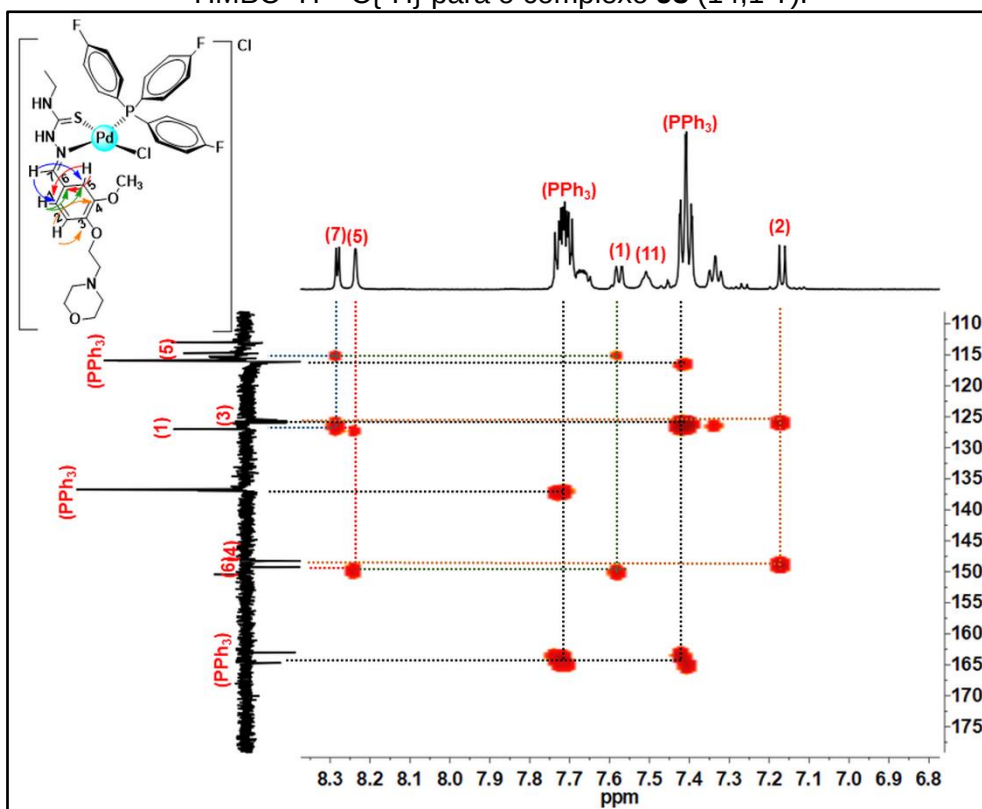
Anexo 18: Ampliação da região de hidrogênios aromáticos no mapa de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o complexo **J2** (14,1 T).



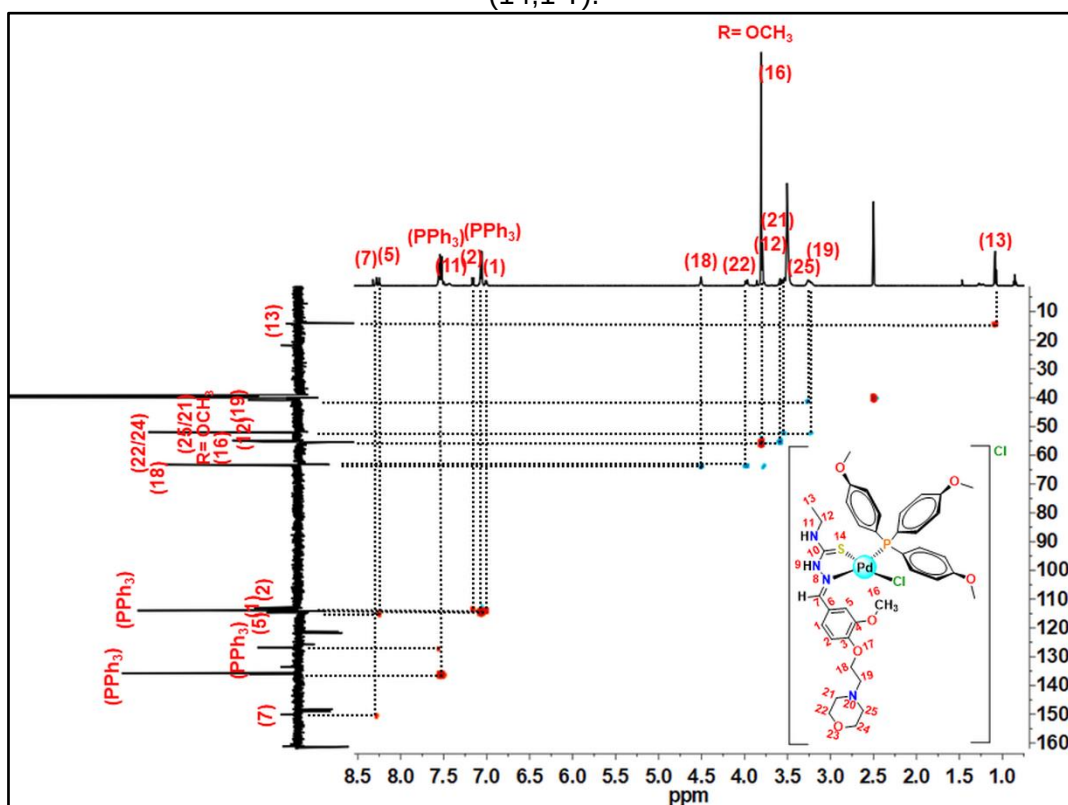
Anexo 19: Mapa de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o complexo para o complexo **J3** (14,1 T).



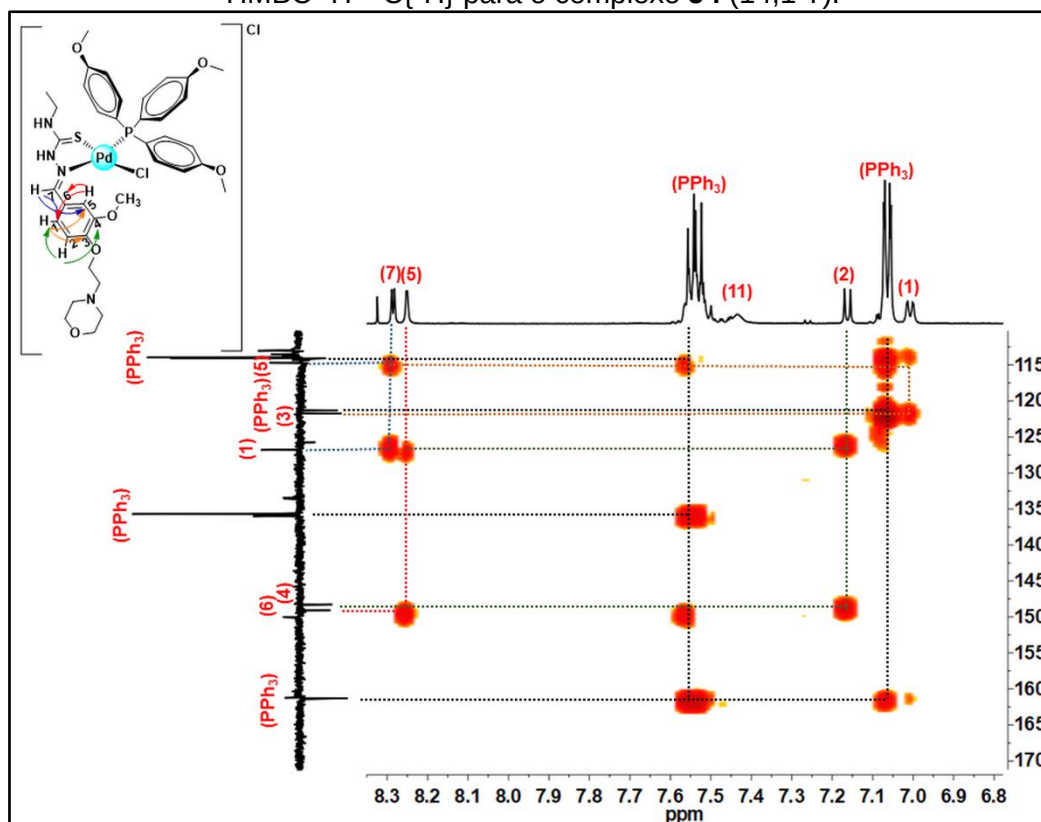
Anexo 20: Ampliação da região de hidrogênios aromáticos no mapa de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o complexo **J3** (14,1 T).



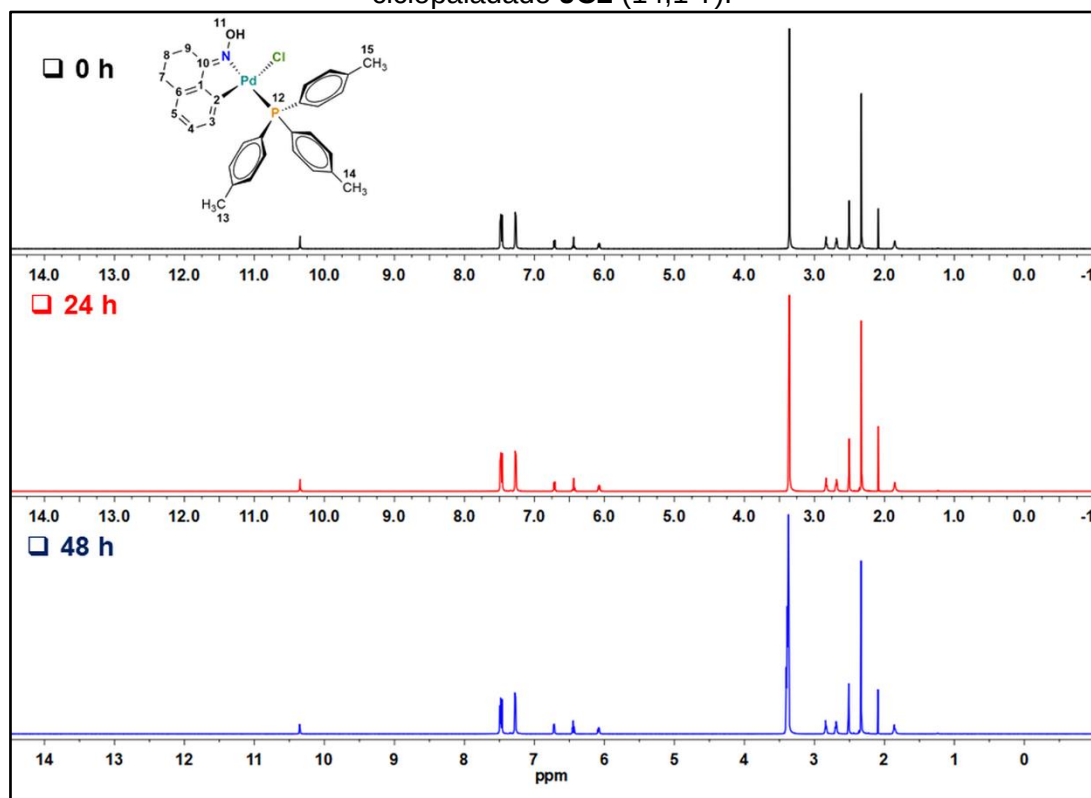
Anexo 21: Mapa de contorno HSQC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o complexo para o complexo **J4** (14,1 T).



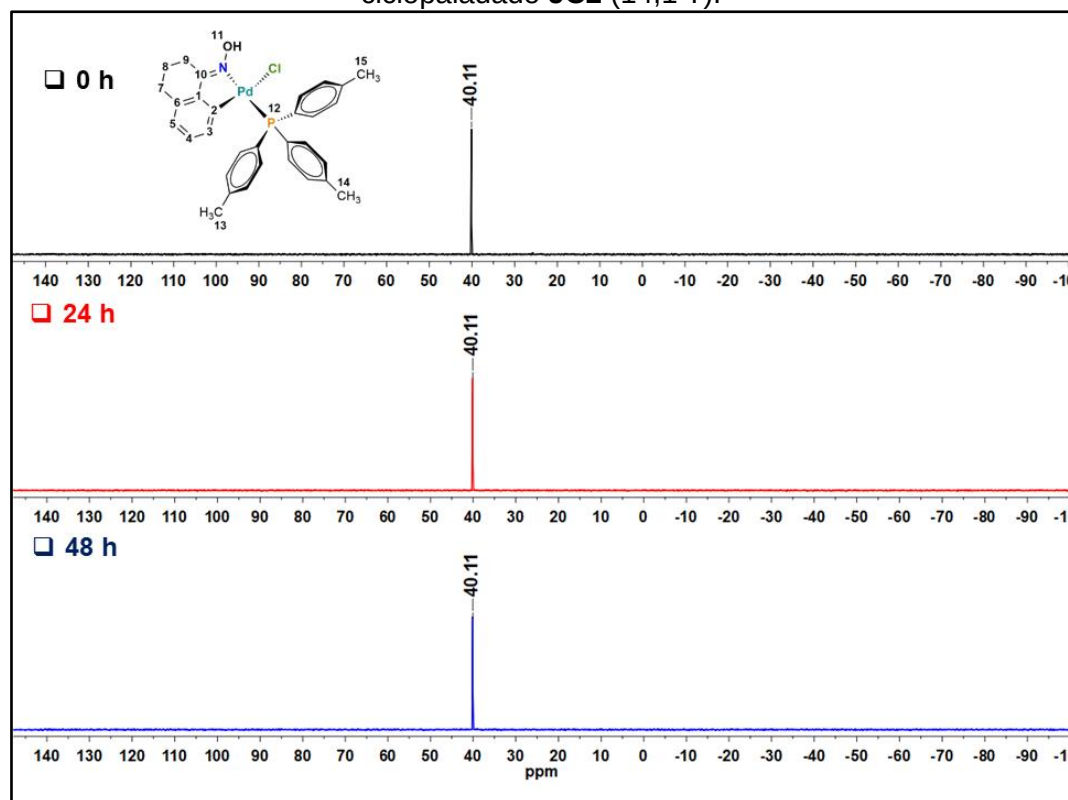
Anexo 22: Ampliação da região de hidrogênios aromáticos no mapa de contorno HMBC ^1H - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o complexo **J4** (14,1 T).



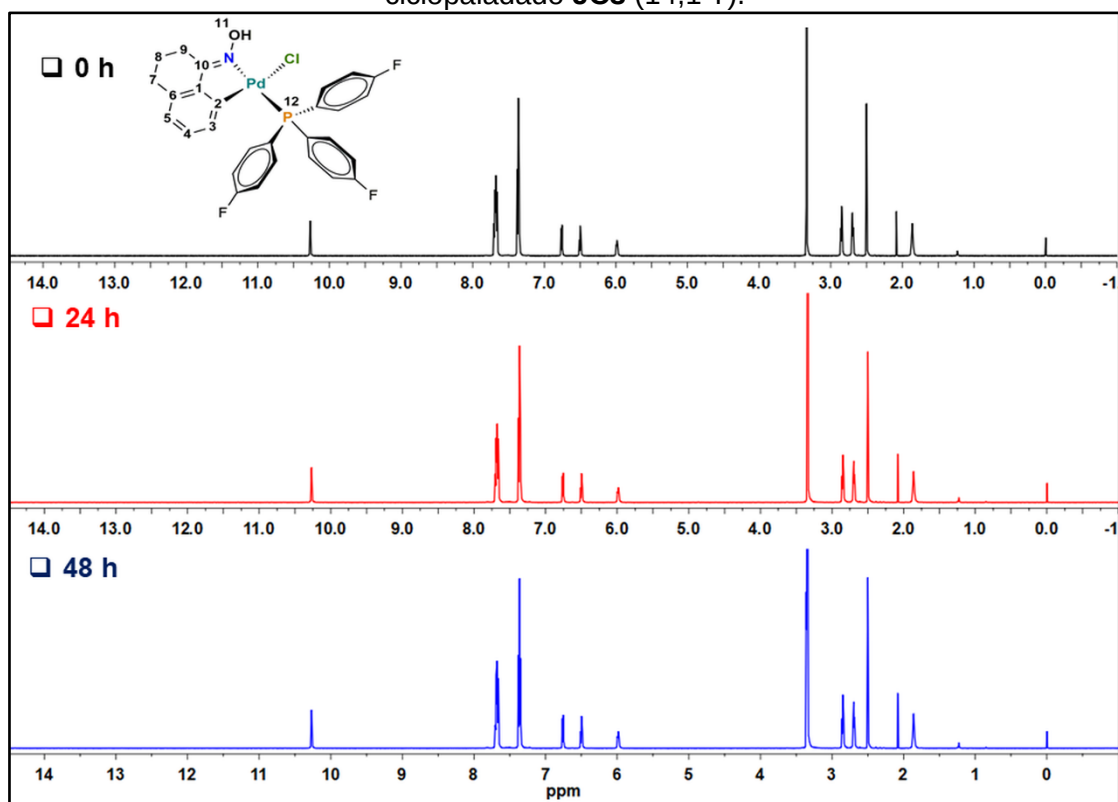
Anexo 23: Espectro de RMN ^1H coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o ciclopalladado **JC2** (14,1 T).



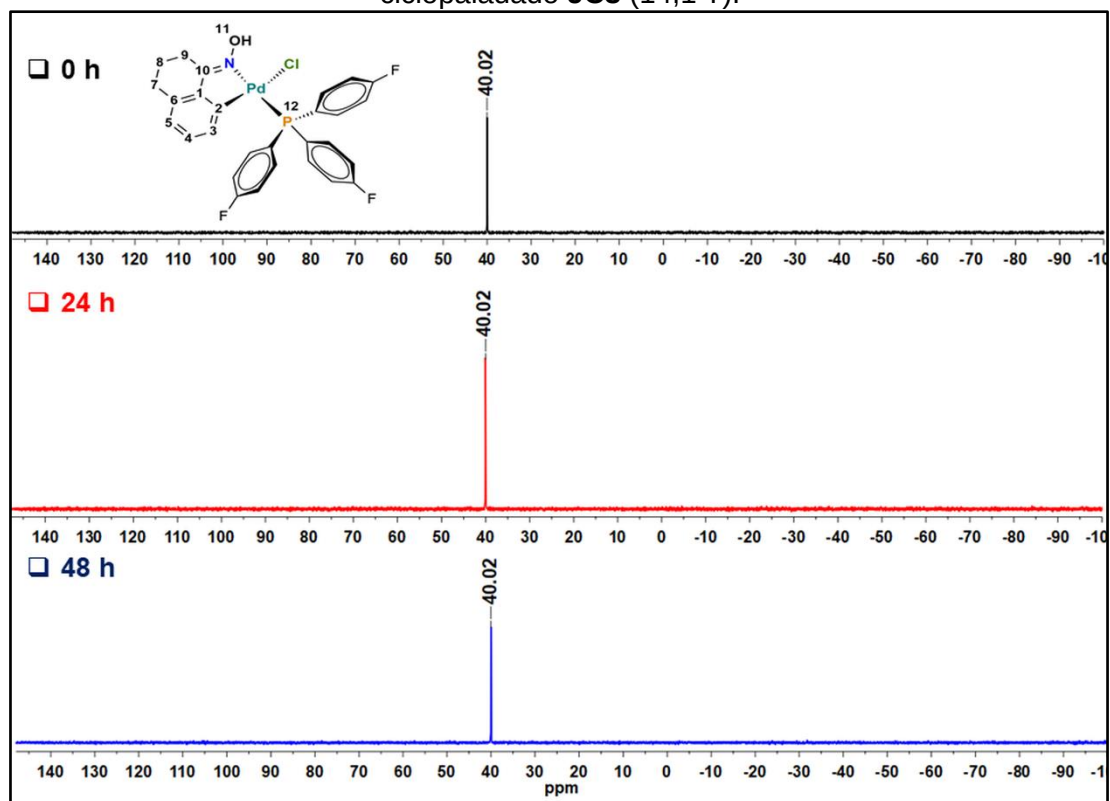
Anexo 24: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o ciclopalladado **JC2** (14,1 T).



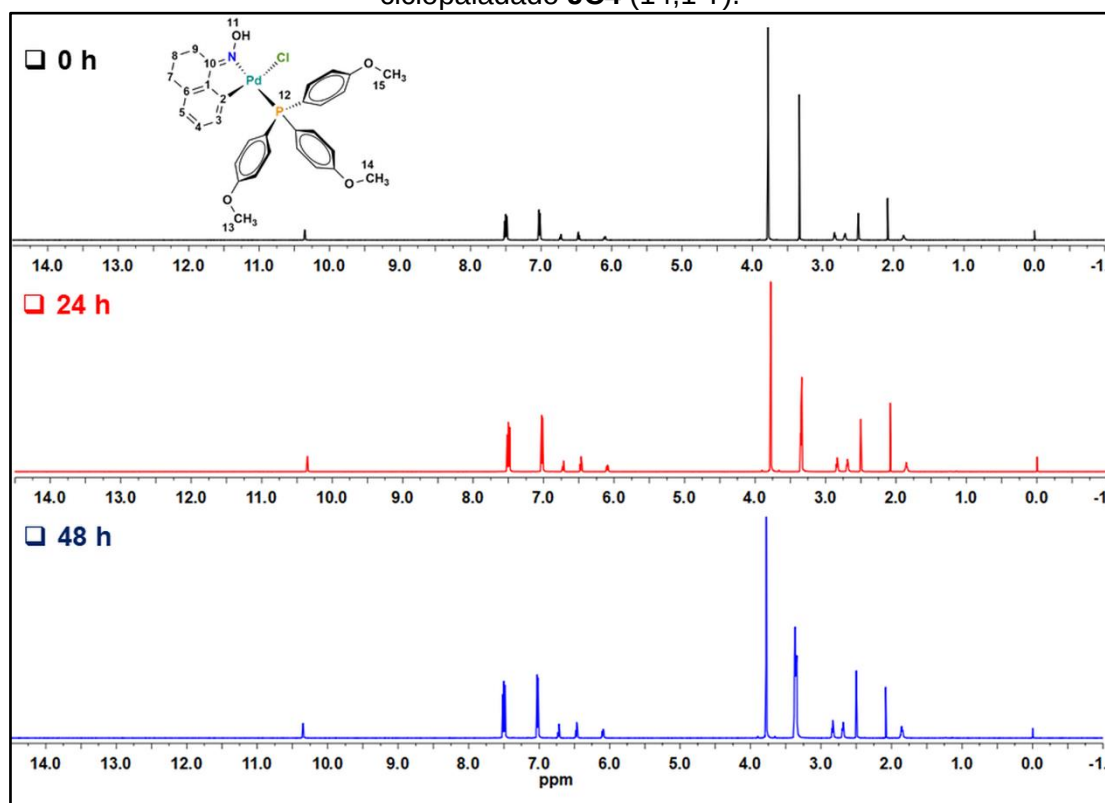
Anexo 25: Espectro de RMN ^1H coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o ciclopalladado **JC3** (14,1 T).



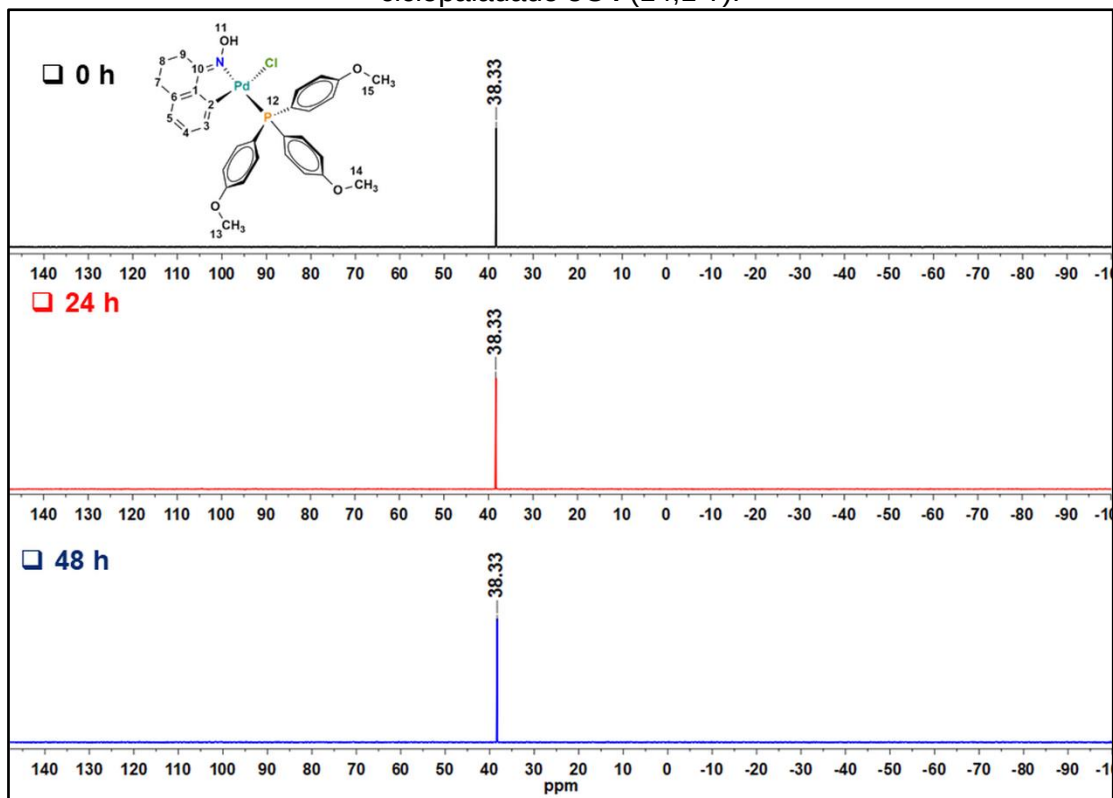
Anexo 26: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o ciclopalladado **JC3** (14,1 T).



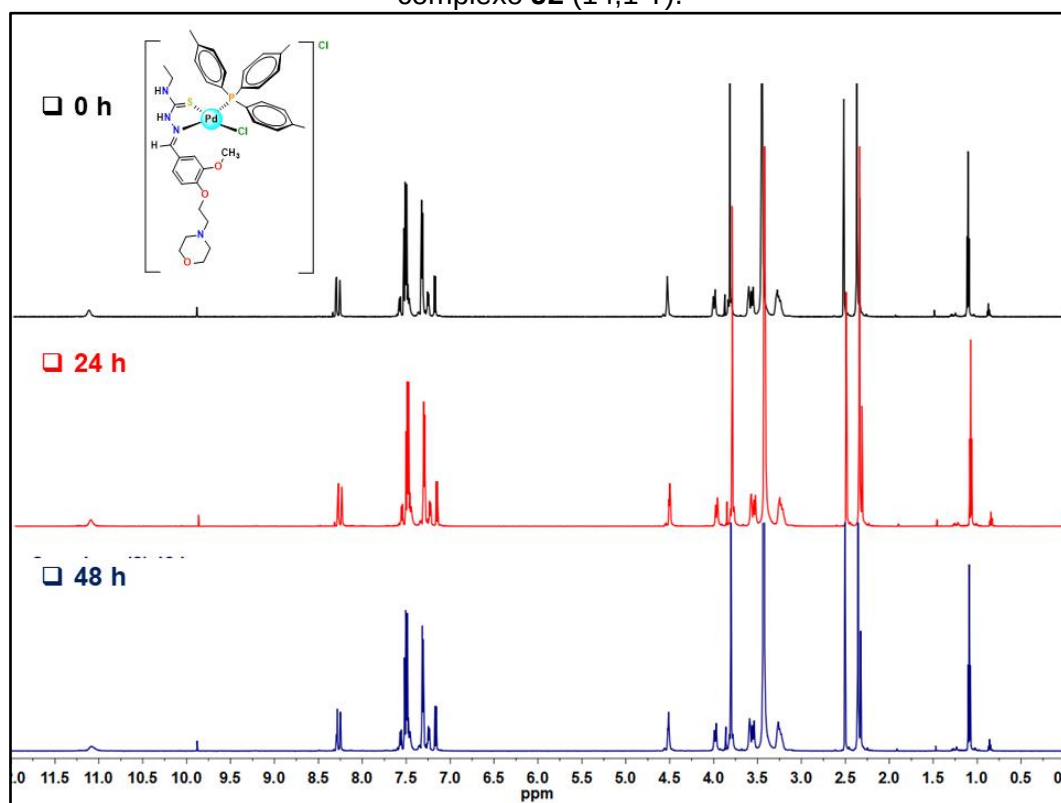
Anexo 27: Espectro de RMN ^1H coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o ciclopalladado **JC4** (14,1 T).



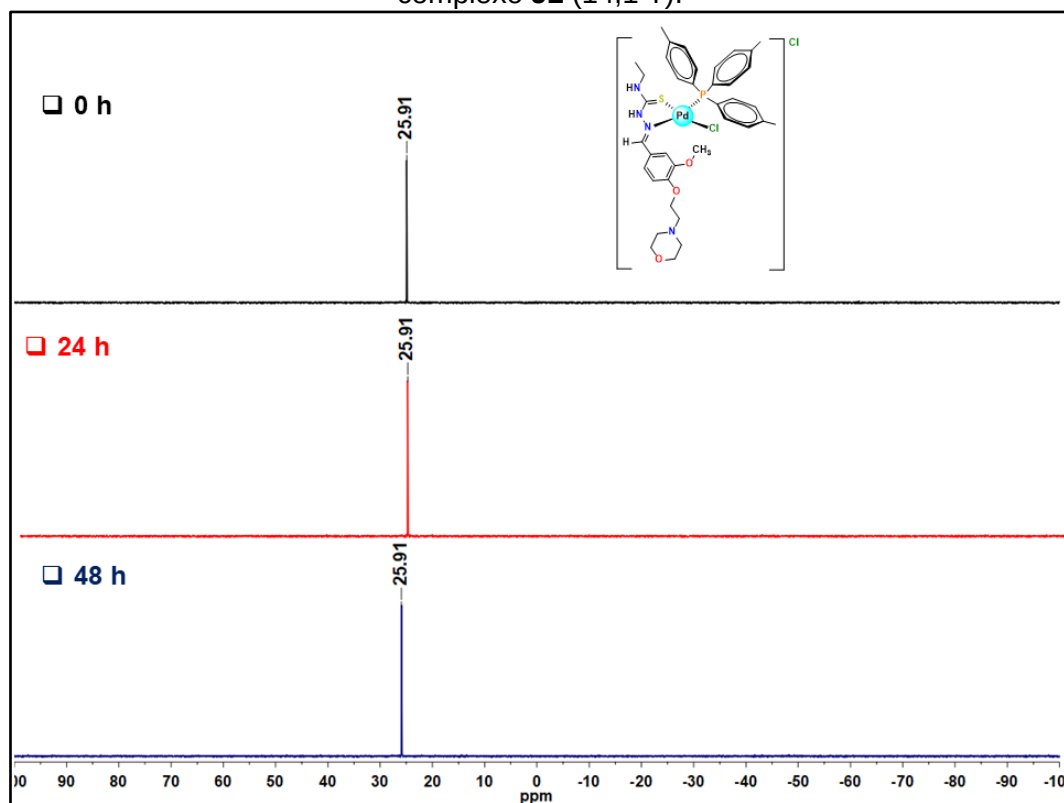
Anexo 28: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o ciclopalladado **JC4** (14,1 T).



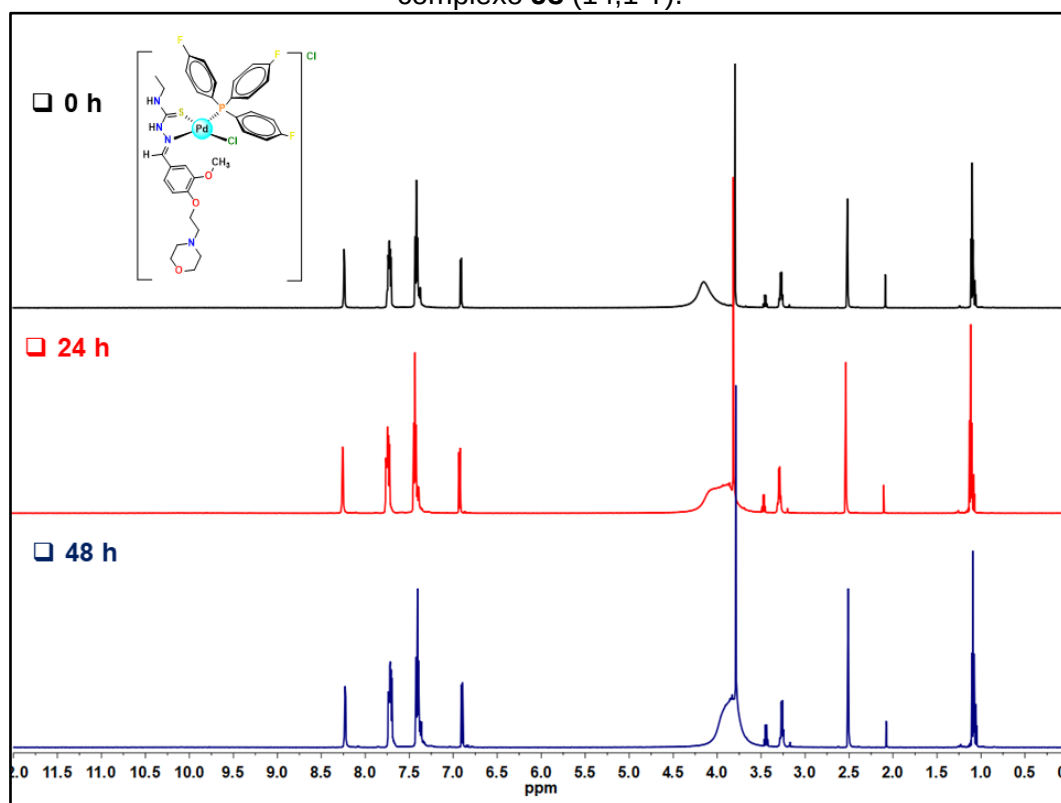
Anexo 29: Espectro de RMN ^1H coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o complexo **J2** (14,1 T).



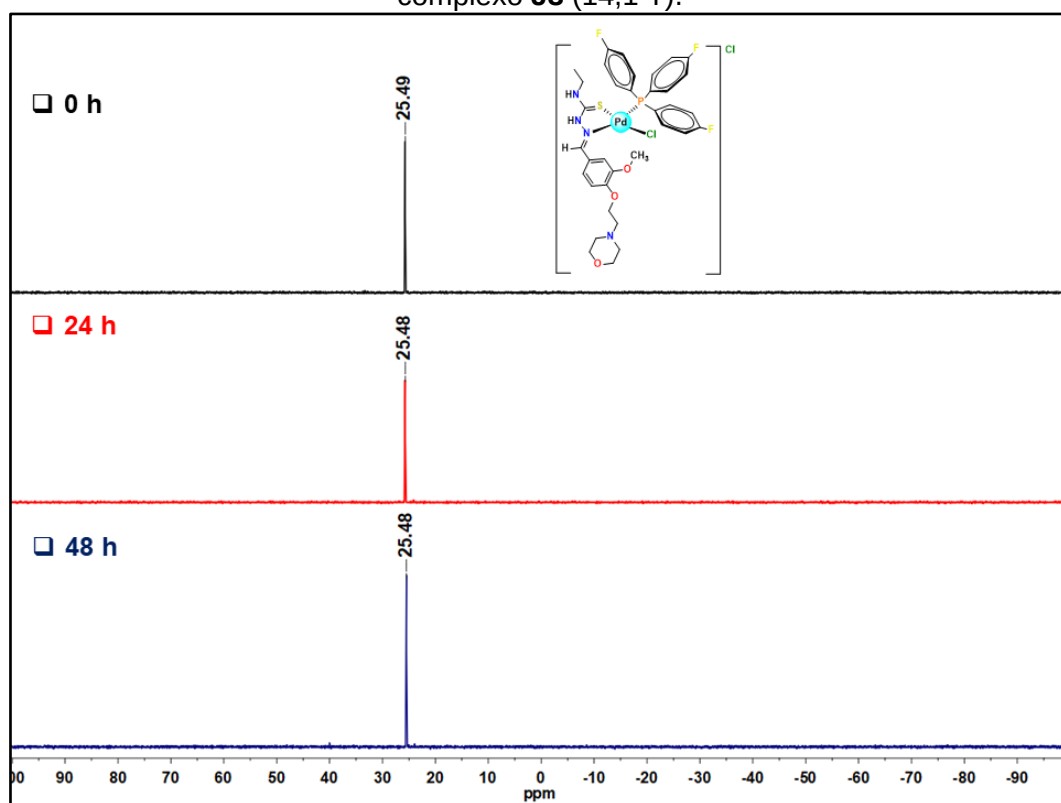
Anexo 30: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o complexo **J2** (14,1 T).



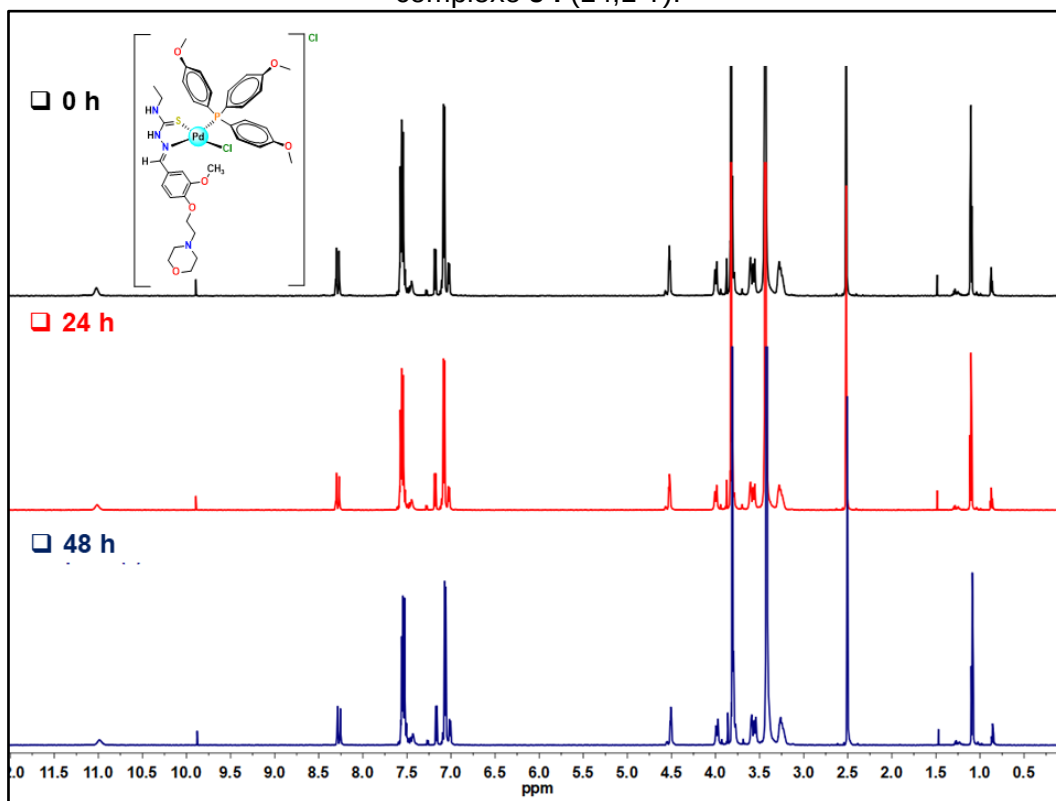
Anexo 31: Espectro de RMN ^1H coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o complexo **J3** (14,1 T).



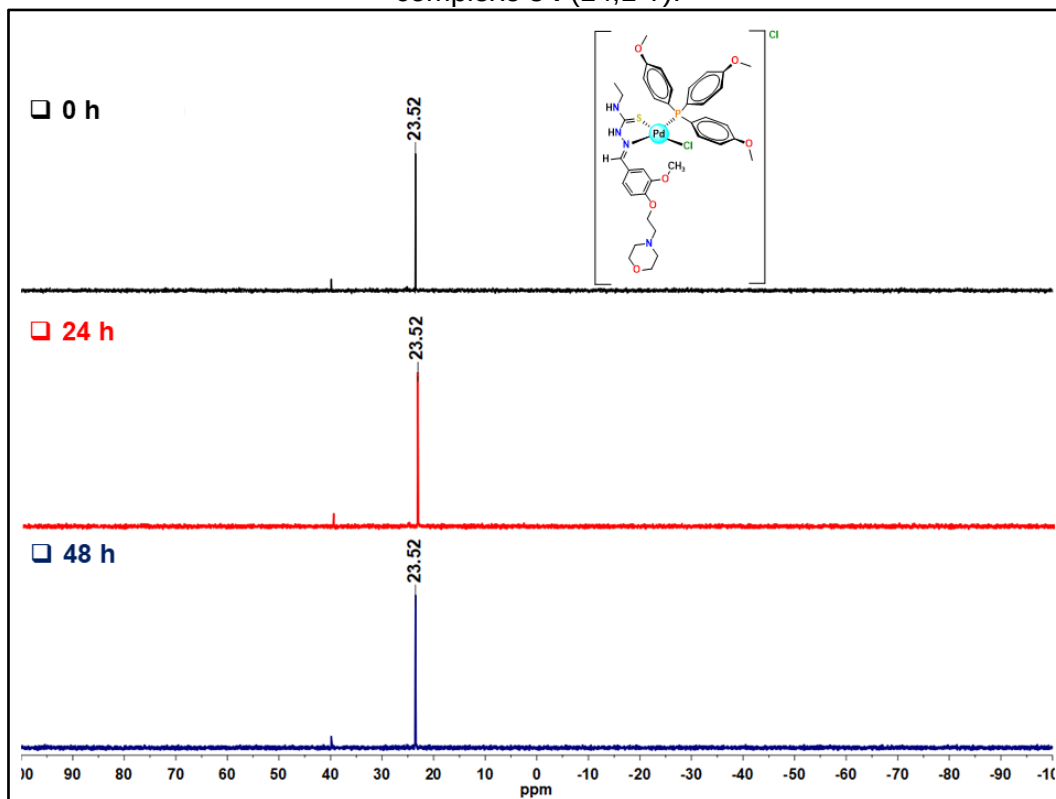
Anexo 32: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o complexo **J3** (14,1 T).



Anexo 33: Espectro de RMN ^1H coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o complexo **J4** (14,1 T).



Anexo 34: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ coletados nos tempos de 0, 24 e 48 h para o complexo **J4** (14,1 T).



Anexo 35: Sobreposição da estrutura cristalina obtida para o composto **JC3** (com átomos em cores) e a estrutura minimizada pelo método PM7 (átomos em verde claro) (RMSD = 1.21 Å). Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza.

